



①⑨ **BUNDESREPUBLIK  
DEUTSCHLAND**



**DEUTSCHES  
PATENT- UND  
MARKENAMT**

⑫ **Offenlegungsschrift**  
⑩ **DE 197 20 165 A 1**

⑤① Int. Cl.<sup>6</sup>:  
**C 07 K 5/06**  
A 61 K 38/05

D18

②① Aktenzeichen: 197 20 165.2  
②② Anmeldetag: 14. 5. 97  
④③ Offenlegungstag: 28. 1. 99

DE 197 20 165 A 1

⑦① Anmelder:  
Morphochem GmbH, 81373 München, DE  
  
⑦④ Vertreter:  
Forstmeyer, D., Dipl.-Chem.Univ.Dr.rer.nat.,  
Pat.-Anw., 81541 München

⑦② Erfinder:  
Antrag auf Nichtnennung  
  
⑤⑥ Entgegenhaltungen:  
Angew. Chem. 1995, 107, S.2465-2467;

**Die folgenden Angaben sind den vom Anmelder eingereichten Unterlagen entnommen**

Prüfungsantrag gem. § 44 PatG ist gestellt

⑤④ Verfahren zur Herstellung von Polymeren, die Nucleobasen als Seitengruppen aufweisen

⑤⑦ Es wird ein Verfahren zur Herstellung von Polymeren, die Nucleobasen als Seitengruppen aufweisen, mittels Multi Komponenten Reaktionen, speziell der Ugi Reaktion beschrieben. Aufgrund der Multikomponenten Natur der Herstellung können die Eigenschaften der Polymere wesentlich besser als bisher möglich variiert werden und auf die Erfordernisse für eine Anwendung als Antisense- oder Antigen therapeutikum oder Diagnostikum angepaßt werden.

DE 197 20 165 A 1

Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Herstellung von Polymeren, die Nucleobasen als Seitengruppen aufweisen, mittels Multi Komponenten Reaktionen, speziell der Ugi Reaktion.

Mittels polymeren peptidischen Nucleinsäuren (PNA) regulierend auf die Genexpression einzuwirken wurde erstmals in den 60er Jahren von Svachkin et al. beschrieben (R. A. Pačgle, M. G. Plata, M. Yu. Lidak, S. A. Giller, Yu. P. Shvachkin, in: Present State of the Chemotherapy of Malignant Tumors [in russisch], Riga (1968), 103 ff; Review: Yu. P. Shvachkin, G. P. Mishin, G. A. Korshunova, Russian Chemical Reviews, 51, 1982, 178-188). 1978 haben Zamcenik und Stephenson die Begriffe Antisense und Antigen eingeführt: Diese Begriffe beschreiben Mechanismen, wie therapeutisch in die Translation und Transkription von Genen eingegriffen werden kann (Proc. Natl. Acad. Sci. USA., 1978, 75, 280 und 285).

Bei der Antisense Strategie bindet ein Antisense Molekül an die mRNA und verhindert somit deren Translation zu einem Protein. Bei der Antigen Strategie wird eine Tripelhelix des Antigen Moleküls mit der doppelsträngigen DNA gebildet und somit die Transkription in die mRNA modifiziert (E. Uhlmann, A. Peyman, Chem. Rev., 90, 1990, 544-584).

Verschiedene Substanzen befinden sich in diesem Zusammenhang als potentielle Therapeutika von Viruserkrankheiten, Krebs etc. in diversen klinischen Phasen.

Ein gutes Antisense Molekül sollte dabei u. a. den folgenden Anforderungen genügen:

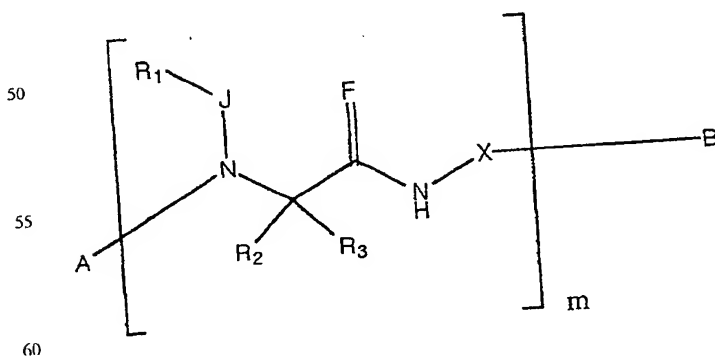
1. Es sollte ohne Zuhilfenahme sog. Transfektionsreagentien oder Liposomen eine gute Zell- und Zellkerngängigkeit aufweisen;
2. Es sollte zur Erreichung einer ausreichenden Bioverfügbarkeit Nuclease- und Peptidase-Resistenz aufweisen; und
3. Es sollte die Sequenz des natürlichen Sense Stranges präzise erkennen.

Als ein vielversprechendes Antisense und Antigen Polymer hat sich die von Nielsen et al. beschriebene PNA erwiesen (Science 1991, 254, 1497-1500; WO 92/20702), die auch als molekularbiologisches Werkzeug vielfältige Anwendung gefunden hat. Dies ist vor allem auf die hohe Affinität der PNA zum Sense Strang (DNA, RNA) bei sehr guter Sequenzspezifität zurückzuführen. Die PNA kann wesentlich besser Mismatches in Sequenzen identifizieren als natürliche DNA oder RNA. Weiterhin vermögen Pyrimidin-reiche PNA-Stränge die DNA-Doppelhelix aufzuwinden und eine (PNA)<sub>2</sub>DNA Tripelhelix zu bilden. Solche Strukturen sind potentielle Translations- und Replikationskomplexmimetika und man könnte damit in der Lage sein, gezielt Gene ein- und auszuschalten. Für eine in vivo Anwendung müssen aber noch diverse Eigenschaften der PNA verbessert und optimiert werden. Z.B. ist die PNA nicht zellgängig. Die erwähnte (PNA)<sub>2</sub>DNA Tripelhelix Bildung findet nur bei Pyrimidin-reichen PNA-Strängen und nur unter unphysiologischen Salzkonzentrationen statt. PNA's aggregieren und sind schlecht wasserlöslich. PNA – selbst ein polares Polymer – bindet sowohl parallel als auch antiparallel mit ähnlichen Bindungskonstanten an die Zielstruktur DNA oder RNA. Es wird auch über starke cytotoxische Effekte der PNA berichtet (EP 0 672 677 A2).

Wie sich gezeigt hat, werden neue verbesserte PNA's am effektivsten durch Screening einer großen Zahl von Varianten gefunden (S. Jordan et al., Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, 1997, 7, 681 und 687). Zur systematischen und schnellen Herstellung vieler Analoga erscheinen die bisherigen beschriebenen Methoden der PNA Synthese, die auf sequentiellen Zweikomponentenreaktionen von Monomeren beruhen, welche ihrerseits über viele Schritte aus geeigneten käuflichen Vorstufen synthetisiert werden müssen, nicht optimal geeignet (M. Egholm et al., Journal of the American Chemical Society, (1992) 114, 1895).

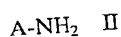
Es ist daher die Aufgabe der vorliegenden Erfindung, ein Verfahren bereitzustellen, mit dem komplexe Mono-, Oligo- und Polymere, die Nucleobasen als Seitengruppen aufweisen, und insbesondere PNA's mit einer großen Variationsfähigkeit hergestellt werden können.

Erfindungsgemäß wird ein Verfahren zur Herstellung von Verbindungen der Formel (I) offenbart



Formel I

dadurch gekennzeichnet, daß Verbindungen der Formeln



R<sub>1</sub>-G IIIR<sub>2</sub>-C(O)-R<sub>3</sub> IV und

C=N-X-NPG V

in einem ersten Schritt gegebenenfalls gleichzeitig miteinander umgesetzt werden,  
gegebenfalls eine oder mehrere Schutzgruppen entfernt werden

und die Reaktion m-mal wiederholt wird,

wobei das Produkt des jeweils vorangegangenen Schrittes nach dem ersten Schritt anstelle der Verbindung mit der Formel II eingesetzt wird,

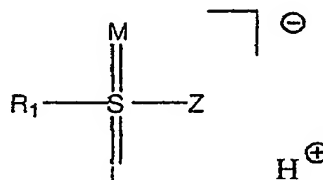
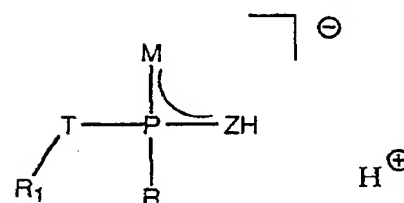
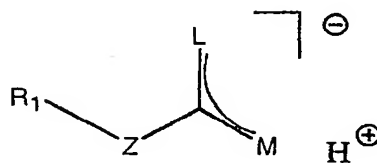
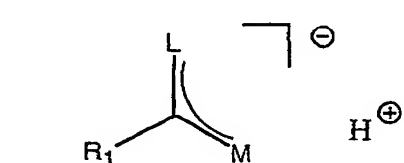
wobei

m 0 oder eine ganze Zahl von 1 bis 1000, vorzugsweise 1 bis 300 ist,

A ein in der Ugi Reaktion üblicher Rest der Aminkomponente wie ein Wasserstoffatom, ein Substituent, (Cyclo-)Alkyl, (Cyclo-)Alkenyl, (Cyclo-)Alkynyl, Aroyl, Heteroaroyl, ein Heterocyclus, ein Fluoreszenzmarker, ein Intercalator, ein Antibiotikum, ein Minor Groove Binder, ein Major Groove Binder, ein Biotinylrest, ein intercalierender Rest, ein alkylierender Rest, ein Steroid, ein Lipid, ein Polyamin, ein die Zellaufnahme erleichterndes Agens, ein Saccharid oder Oligosaccharid, ein Antisensepolymer, ein Peptid, ein Antikörper-Konjugat, ein synthetisches Polymer oder eine entsprechend modifizierte Oberfläche ist,

B ein Wasserstoffatom, ein Substituent, (Cyclo-)Alkyl, (Cyclo-)Alkenyl, (Cyclo-)Alkynyl, Aroyl, Heteroaroyl, ein Heterocyclus, ein Fluoreszenzmarker, ein Intercalator, ein Antibiotikum, ein Minor Groove Binder, ein Major Groove Binder, ein Biotinylrest, ein intercalierender Rest, ein alkylierender Rest, ein Steroid, ein Lipid, ein Polyamin, ein die Zellaufnahme erleichterndes Agens, ein Saccharid oder Oligosaccharid, ein Antisensepolymer, ein Peptid, ein Antikörper-Konjugat, ein synthetisches Polymer oder eine entsprechend modifizierte Oberfläche oder ein Rest X--NPG der Verbindung V ist,

R<sub>1</sub>-G aus Strukturen der folgenden Formeln ausgewählt wird:

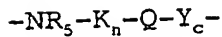
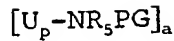


wobei die Gruppe R<sub>1</sub>-G über einen molekularen Spacer über R<sub>1</sub> oder R oder R<sub>4</sub> mit der Verbindung der Formel IV verknüpft sein kann;

R<sub>1</sub> und R unabhängig voneinander ein in der Ugi Reaktion üblicher Rest der Säurekomponente wie H, ein Substituent, (Cyclo-)Alkyl, (Cyclo-)Alkenyl, (Cyclo-)Alkynyl, Aroyl, Heteroaroyl, ein Heterocyclus, ein Fluoreszenzmarker, ein Intercalator, ein Antibiotikum, ein Minor Groove Binder, ein Major Groove Binder, ein Biotinylrest, ein intercalierender Rest, ein alkylierender Rest, ein Steroid, ein Lipid, ein Polyamin, ein Saccharid oder Oligosaccharid, ein Antisensepolymer, ein Peptid, ein Antikörper-Konjugat, ein synthetisches Polymer oder eine entsprechend modifizierte Oberfläche, oder von den natürlichen Nucleobasen oder von synthetischen Nucleobasen abgeleitete Reste sind;

L, M, T und Z unabhängig voneinander O, S oder NR<sub>4</sub> bedeuten, wobei R<sub>4</sub> H, Fluor, (Cyclo-)Alkyl, (Cyclo-)Alkenyl, (Cyclo-)Alkynyl, Aroyl, Heteroaroyl, Heterocyclus oder -O(Cyclo-)Alkyl, -OAroyl, -S(Cyclo-)Alkyl, -SAroyl bedeuten; R<sub>2</sub> und R<sub>3</sub> unabhängig voneinander ein in der Ugi Reaktion üblicher Rest der Oxokomponente wie H, ein Substituent, (Cyclo-)Alkyl, (Cyclo-)Alkenyl, (Cyclo-)Alkynyl, Aroyl, Heteroaroyl, ein Heterocyclus, ein Fluoreszenzmarker, ein Intercalator, ein Antibiotikum, ein Minor Groove Binder, ein Major Groove Binder, ein Biotinylrest, ein intercalierender Rest, ein alkylierender Rest, ein Steroid, ein Lipid, ein Polyamin, ein über einen Aminspacer verknüpftes Saccharid oder Oligosaccharid, ein Antisensemolekül, ein Peptid, ein Antikörper-Konjugat, ein synthetisches Polymer, eine modifizierte Oberfläche oder ein Verzweigungspunkt P sind, der wiederum Ausgangspunkt für einen weiteren DNA-, RNA-, PNA- oder Peptidstrang oder ein anderes Oligomer oder Polymer ist,

X die folgende Struktur aufweist:



VI



PG unabhängig voneinander gegebenenfalls orthogonale Schutzgruppen wie Aminschutzgruppen aus der Klasse der N-Acylderivate, der N-Sulfonylderivate, der N-Alkylderivate, der N-Silylderivate, der Carbamate oder der Salze darstellen;  
 15 die Reste  $R_5$  unabhängig voneinander Wasserstoffatome, unsubstituierte oder substituierte Alkyl-, Cycloalkyl-, Alkoxyalkyl- oder Arylgruppen oder Heterocyclen darstellen;

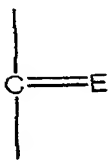
die Reste U, W, K und Y unabhängig voneinander unsubstituierte oder substituierte Alkyl-, Alkenyl-, Alkynyl-, Alkanoyl-, Alkoxyalkanoyl-, Cycloalkyl- oder Arylgruppen, unsubstituierte oder substituierte Heterocyclen oder die Gruppe  $NR_5$  darstellen, wobei  $R_5$  wie vorstehend definiert ist;

a, b, c, n, o und p unabhängig voneinander eine ganze Zahl von 0-10 vorzugsweise 0-5 sind;

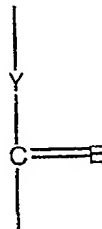
Q eine unsubstituierte oder substituierte Alkyl-, Aryl-, Alkenyl-, Alkynyl-, ein- oder mehrwertige Alkanoyl-, Cycloalkyl-, Alkoxyalkanoyl-, Cycloalkanoyl-, Aroylgruppe oder einen unsubstituierten oder substituierten Heterocyclen, oder eine der Gruppen  $NR_5$ , P, P(O), P(S), B,  $BR_5$  oder  $SO_2$  darstellt, wobei  $R_5$  wie vorstehend definiert ist und die Indices a, b, o und p jeweils entsprechende Werte aufweisen;

F eine Oxo, Thio, Seleno oder Iminogruppe darstellt, und

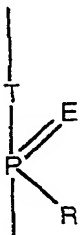
J aus den folgenden Strukturen ausgewählt wird, wobei der obere vertikale Strich die Bindung zu  $R_1$  und der untere vertikale Strich die Bindung zum Stickstoffatom der Hauptkette des Polymers in der allgemeinen Formel I darstellt:



E = M oder L



E = L oder M



E = M oder Z

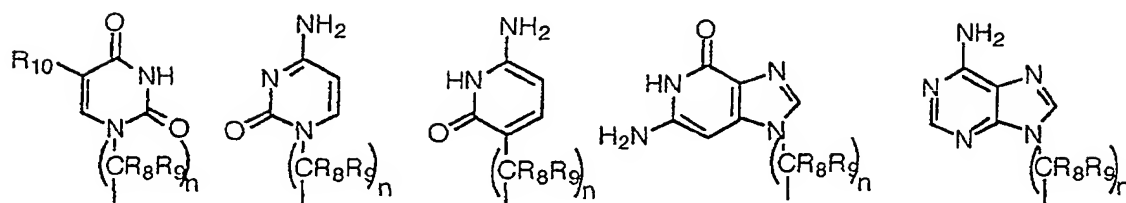
R =  $OR_6$ ,  $SR_6$ ,  $R_6$ 

E = M, L oder Z

F = M, L oder Z

wobei  $R_6$  H, einen Substituent, (Cyclo-)Alkyl, (Cyclo-)Alkenyl, (Cyclo-)Alkynyl, Aroyl, Heteroaroyl, Heterocyclen darstellt, mit der Maßgabe, daß mindestens einer der Reste R oder  $R_1$  in der Verbindung der Formel I ein von einer natürlichen oder synthetischen Nucleobase abgeleiteter Rest ist (Anspruch 1).

In einer bevorzugten Ausführungsform ist das Verfahren dadurch gekennzeichnet, daß: die Fluoreszenzmarker Fluorescein, Texas Rot, Lissamin Rhodamin, Cyanin oder Rhodamin, die Intercalatoren Psoralen, Acridin, Phenanthrolin, ein Phenanthrolin-Metall Komplex oder Ellipticin sind, die Antibiotika Endiine,  $\beta$ -Lactame, Tetracycline, Anthracycline, Polyether, Mitomycin-artige, Phosphomycin-artige, Macrolide, Bleomycin-artige oder ein Aminoglycosid sind, der Minor Groove Binder Netropsin oder Distamycin ist, das Polyamin ein Spermidin-artiges Polyamin ist, das Antisensepolymer ein DNA- (5' oder 3' verknüpft) oder RNA-Strang (5' oder 3' verknüpft) oder ein Phosphothioat ist, das Peptid N- oder C-terminal verknüpft ist, das Antikörper-Konjugat aus Antikörperkonjugaten ausgewählt wird, die zellspezifische Aufnahme gewähren, spezifische Carriersysteme ansprechen oder Endocytose bewirken, das synthetische Polymer CPG, Wang, oder Tentagel ist, die natürlichen Nucleobasen Adenin, Thymin, Guanin, Cytosin oder Uracil sind und die synthetischen Nucleobasen Pseudouracil, 5-Propinyluracil, 5-Hexenyluracil, 5-Fluorcytidin, 5-Hydroxymethyluracil, 5-Methylcytidin, 5-Bromcytidin und Verbindungen der folgenden Formeln sind



wobei  $R_8$  und  $R_9$  unabhängig voneinander H, (Cyclo-)Alkyl, (Cyclo-)Alkenyl, (Cyclo-)Alkynyl, Aryl, Heteroaroyl, Heterocyclus, Chlor oder Fluor sind,  $R_{10}$  = Fluor, Brom, Jod, Chlor, Alkynyl, (Cyclo-)Alkyl, Aryl, Heteroaroyl oder II ist, und  $n = 1-20$ , bevorzugt  $1-10$  und besonders bevorzugt  $1-5$  ist, wobei die Seitengruppen der Basen mit dem Fachmann bekannten Schutzgruppen, wie z. B. tert-Butylbenzoyl, p-Methoxybenzyl, iso-Butanoyl geschützt sein können.

Alle bisherigen und im folgenden genannten funktionellen Einheiten wie Antibiotika, Groove Binder, Antisense-moleküle, Steroide, Antikörperkonjugate, Interkalatoren und Oligosaccharide können über einen geeignet konstruierten Spacer an das Hauptpolymer gebunden werden. Geeignet meint mindestens eine funktionelle Gruppe der Ugi-Reaktion wie Oxo-, Säure-, Amin- oder Isocyano-Funktion enthaltend. Geeignet kann aber auch eine sonstige funktionelle Gruppe bedeuten, über die der Fachmann zwei molekulare Einheiten miteinander verbindet.

Die Schutzgruppen PG sind an sich übliche leicht abspaltbare (temporäre) Schutzgruppen für Amingruppen. Ansonsten müßten zur ihrer Abspaltung zu drastische Bedingungen eingesetzt werden, welche zu unerwünschten Nebenreaktionen oder sogar zur Zersetzung der Reaktionsprodukte führen können. Bevorzugt stellen die Schutzgruppen PG N-Acylderivate, N-Alkylderivate oder Azidgruppen dar, und besonders werden N-Acyl-, N-Sulfonyl-, N-Alkyl-, N-Silylschutzgruppen wie z. B. tert.-Boc-, Alloc-, Fmoc-, Moz-, Z-, Tr-, MMTr-, DMTr-, Pixyl-, TBDMS-Schutzgruppen, Salze desamins bevorzugt.

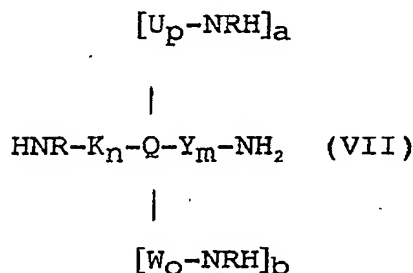
Die Reste  $R_5$  stellen bevorzugt unabhängig voneinander Wasserstoffatome, oder unsubstituierte oder substituierte Alkyl-, Aryl-, Cycloalkylgruppen oder Heterocyclen, insbesondere sterisch wenig anspruchsvolle Gruppen, wie Alkyl, Aryl, Cycloalkyl, Heterocyclen und besonders bevorzugt Wasserstoffatome dar, da primäre Amine meist reaktiver sind als sekundäre Amine [I. Ugi, Angew. Chem. 74, 9 (1962)].

Die Reste U, W, K und Y stellen bevorzugt unabhängig voneinander unsubstituierte oder substituierte Alkyl-, Cycloalkyl- oder Arylgruppen und besonders bevorzugt Methylen-, Äthylen-, Propylen-, Heptylen-, Octylen-, Nonylen-, Oxymethylen-, Oxyäthylen-, Cyclohexyl-, Phenylgruppen und Heterocyclen dar.

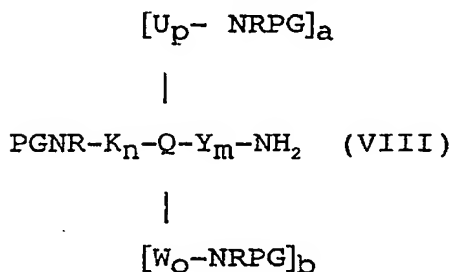
Die Indices a, b, m, n, o und p sind bevorzugt unabhängig voneinander ganze Zahlen von 0-50, stärker bevorzugt von 0-20 bzw. von 0-10, noch stärker bevorzugt von 0-5 und besonders bevorzugt von 0-3 und am stärksten bevorzugt sind a, b, p und o 0 und sind m und n 0, 1 oder 2.

Der Rest Q stellt bevorzugt mindestens eine unsubstituierte Alkyl-, Aryl- oder Arylgruppe oder einen unsubstituierten oder substituierten Heterocyclus und besonders bevorzugt Methylen-, Äthylen-, Propylen-, Oxymethylen-, Oxyäthylen-, Dioxymethylen-, 1,2-Dioxyäthylen-, Cyclohexyl-, Phenylgruppen, N und Heterocyclen dar.

Verbindungen der Formel V können dadurch hergestellt werden, daß eine Verbindung der Formel VII



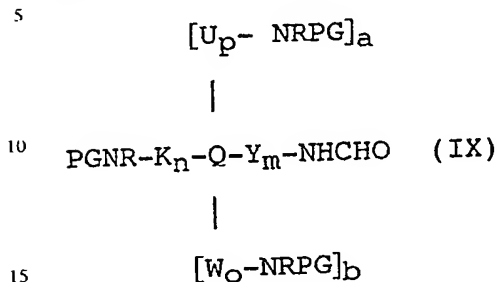
mit den wie vorstehend definierten Gruppen PG, die voneinander unabhängig sein können, mit üblichen Verfahren geschützt wird, wodurch eine Verbindung der Formel VIII hergestellt wird



wobei die Reste und Indices wie vorstehend definiert sind, und dann die Verbindung der Formel VIII mit üblichen Verfahren zu einem Isonitril der Formel V umgesetzt wird. Derartige übliche Verfahren zur Umsetzung von Verbindungen der Formel VIII zu Isonitrilen der Formel V sind z. B. in W.P. Weber, G.W. Gokel, Tetrahedron Lett. 1972, 1637; W.P.

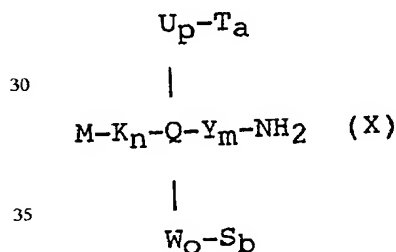
Weber, G.W. Gokel, I.K. Ugi, Angew. Chem. 84, 587 (1972); Angew. Chem. Int. Ed. Engl. 11, 530 (1972) beschrieben. Verbindungen der Formel VII sind im Handel erhältlich.

In einer weiteren Ausführungsform wird die Verbindung der Formel VIII mit üblichen Formylierungsreagenzien zu einer Verbindung der Formel IX umgesetzt:



die dann unter üblichen Bedingungen zu einer Verbindung der Formel V umgesetzt wird, wobei die Reste und Indices wie vorstehend definiert sind (Anspruch 4). Die Formylierung mit derartigen üblichen Formylierungsreagenzien ist z. B. in U. Schöllkopf et al., Liebigs Ann. 89, 351-360 (1977) beschrieben. Ein übliches Verfahren zur Umsetzung einer Verbindung der Formel IX zu einer Verbindung der Formel V ist eine Wasserabspaltung, wie z. B. von I. Hagedorn, H. Tönjes, Pharmazie 11, 409 (1956); I. Ugi, R. Meyr, Angew. Chem. 70, 702 (1958); H.M. Walborsky, G.E. Niznik, J. Org. Chem. 37, 187 (1972); I. Ugi, W. Betz, U. Fetzner, K. Offermann, Chem. Ber. 94, 2814 (1961) I. Ugi, R. Obrecht, R. Herrmann, Synthesis 1985, 400-402; G. Gokel, D. Marquarding, P. Hoffmann, I. Ugi in Isonitrile Chemistry; I. Ugi (Ed.), Academic Press, New York, London 1971, 9 beschrieben. Bevorzugt werden dabei Phosphoroxychlorid und eine geeignete Base wie Triethylamin oder Diisopropylamin eingesetzt.

In einer weiteren Ausführungsform wird ausgehend von Verbindungen der Formel X



wobei die Reste und Indices wie vorstehend definiert sind, zunächst die Aminfunktion z. B. nach einer o.g. Methode formyliert, anschließend eine oder mehrere der Funktionalitäten M, T und S, die unabhängig voneinander Halogene oder Hydroxyfunktionen, bevorzugt Chlor, Brom und Hydroxyl bedeuten, nach einem üblichen Verfahren in eine oder mehrere Azidfunktionen umgewandelt, diese Azide nach einem üblichen Verfahren in die entsprechenden Amine konvertiert und diese dann mit üblichen Verfahren mit o.g. Schutzgruppen versehen, um zu Verbindungen der Formel IX zu gelangen. Ebenso können die Verbindungen der Formel X nach Formylierung und Umwandlung der Gruppen M, T und S in die entsprechenden Azide z. B. nach o.g. Methoden zuerst in die entsprechenden Isonitrile umgesetzt werden, die Azidfunktionen nach einem üblichen Verfahren in Amine konvertiert und dann mit o.g. Schutzgruppen versehen werden, um zu Verbindungen der Formel V zu gelangen.

In der Beschreibung und den Ansprüchen werden die folgenden Definitionen zu Grunde gelegt:  
 Alkyl: Kettenlänge C1 bis C100, bevorzugt C1 bis C20, stärker bevorzugt C1 bis C10, noch stärker bevorzugt C1 bis C6 und am stärksten bevorzugt C1 bis C4, linear oder verzweigt, substituiert (wie unten definiert) oder unsubstituiert,  
 Cycloalkyl: Ringgröße C3 bis C20, bevorzugt C3 bis C9, stärker bevorzugt C3 bis C7, am stärksten bevorzugt C5, C6 oder C7, substituiert (wie unten definiert) oder unsubstituiert,  
 Alkenyl: 1 bis 5, vorzugsweise 1 oder 2 konjugierte oder nicht konjugierte Doppelbindungen enthaltendes Alkyl oder Cycloalkyl,  
 Alkynyl: 1 bis 5, vorzugsweise 1 oder 2 konjugierte oder nicht konjugierte Dreifachbindungen enthaltendes Alkyl oder Cycloalkyl,  
 Heterocyclus: 3-7gliedrige, vorzugsweise 5 oder 6 gliedrige, Heterocyclen wie z. B. substituiertes (wie unten definiert) oder unsubstituiertes Oxiran, Thiiran, Aziridin, Oxaziridin, Oxetan, Thietan, Azeidin, Tetrahydrofuran, Dihydrofuran, Tetrahydrothiophen, Dihydrothiophen, Pyrrolidin, Dihydropyrrol, 1,3-Dioxolan, 1,3-Dithiolan, Imidazolidin, Oxazolidin, Thiazolidin, 2H-Pyran, 4H-Pyran, Tetrahydropyran, 2H-Thiopyran, 4H-Thiopyran, Tetrahydrothiopyran, Piperidin, Morpholin, 1,4-Dioxin, 1,4-Dioxan, 1,4-Dithiin, 1,4-Dithian, Piperazin, Oxepan, Thiepan, Thiopin, 1H-Azepin, 2H-Azepin, Azepan,  
 Aroyl: substituiertes (wie unten definiert) oder unsubstituiertes Benzol, Naphthalin, Anthrazen, Biphenyl, Triphenyl, Azulen, Ferrocen, Cyclopropenylum,  
 Heteroaroyl: 5-6gliedrige heterocyclische aromatische Heterocyclen mit 1, 2 oder 3 Heteroatomen wie z. B. substituiertes (wie unten definiert) Pyrrol, Furan, Thiophen, Pyrazol, Isoxazol, Isothiazol, Imidazol, Oxazol, Thiazol, 1,2,4-Triazol, 1,2,4-Oxadiazol, 1,2,4-Thiadiazol, 1,2,5-Oxadiazol, 1,2,5-Thiadiazol, Tetrazol, Pyridin, Pyrylium, Thiapyrylium, Pyridazin, Pyrimidin, Pyrazin, 1,2,3-Triazin, 1,2,4-Triazin, 1,3,5-Triazin, 1,2,3,4-Tetrazin, 1,2,3,5-Tetrazin, 1,2,4,5-Tetrazin, Indol, Cumaron, Thionaphthen, Carbazol, Bibenzofuran, Dibenzothiophen, 1H-Indazol, Indoxazol, Benzo[d]isothiazol,

Anthranil, Benzinimidazol, Benzoxazol, Benzothiazol, Benzotriazol, Chinolin, Isochinolin, Benzopyrylium, Thiabenzopyrylium, Acridin, Benzo[g]chinolin, Benzo[g]isochinolin, Benzo[c]chinolin, Cinnolin, Phthalazin, Chinazolin, Chinoxalin, Phenazin, Benzo[g]cinnolin, Benzo[g]chinazolin, Benzo[g]chinoxalin, 1,5-Naphthyridin, 1,6-Naphthyridin, 1,7-Naphthyridin, 1,8-Naphthyridin, 2,6-Naphthyridin, 2,7-Naphthyridin, 1,7-Phenanthrolin, 1,8-Phenanthrolin, 1,9-Phenanthrolin, 1,10-Phenanthrolin, Indolizin, 4H-Chinolizin, Carbolin, Ergolin, Purin, Pteridin, Alloxazin, Flavin,

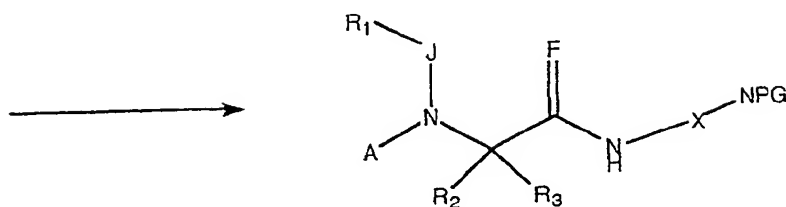
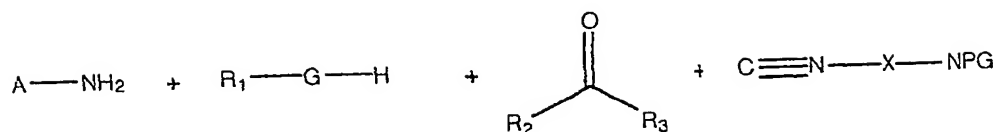
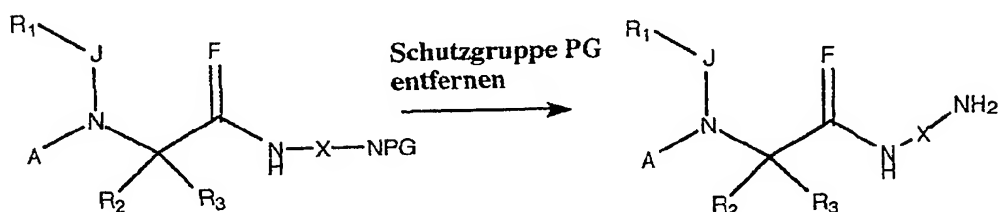
Substituent oder "substituiert mit": -H, -OH, -R<sub>a</sub>, -O-, (Cyclo-)Alkyl, -O-Aryl, -O-Heteroaroyl, -O-Heterocyclus, -NH<sub>2</sub>, -NO<sub>2</sub>, -CN, -N<sub>3</sub>, -CNR<sub>a</sub>NR<sub>b</sub>R<sub>c</sub>, -NR<sub>a</sub>R<sub>b</sub>, NR<sub>a</sub>R<sub>b</sub>R<sub>c</sub><sup>+</sup>, Fluor, Chlor, Brom, a-, b-, bis w-Aminosäureester, -NR<sub>a</sub>COR<sub>b</sub>, -NR<sub>a</sub>COXR<sub>b</sub> (X = -O-, -NR-, -PO<sub>0,2,3,4</sub>R-, -SO<sub>0,1,2,4</sub>R-, -NR<sub>a</sub>NR<sub>b</sub>R<sub>c</sub>), -COR<sub>a</sub>, -COOR<sub>a</sub>, -OCOOR<sub>a</sub>, -CONR<sub>a</sub>R<sub>b</sub>, -OCONR<sub>a</sub>R<sub>b</sub>, -NRCCONR<sub>a</sub>R<sub>b</sub>, -R<sub>a</sub>-O-R<sub>b</sub>, -R<sub>c</sub>-NR<sub>a</sub>R<sub>b</sub>, -R<sub>a</sub>-S-R<sub>b</sub>, -R<sub>a</sub>-SO-R<sub>b</sub>, -R<sub>a</sub>-S(O)<sub>2</sub>-R<sub>b</sub>, -OR<sub>a</sub>-O-R<sub>b</sub>, -NR<sub>a</sub>R<sub>b</sub>-O-R<sub>c</sub>, -SO<sub>2</sub>R<sub>a</sub>, -SO<sub>1,2,3,4</sub>R<sub>a</sub>-O-R<sub>b</sub>, -COR<sub>a</sub>-OR<sub>b</sub>, -COOR<sub>a</sub>-O-R<sub>b</sub>, -OCOR<sub>a</sub>-O-R<sub>b</sub>, -OCOOR<sub>a</sub>-O-R<sub>b</sub>, -NR<sub>b</sub>COR<sub>a</sub>-O-R<sub>b</sub>, -CONR<sub>a</sub>R<sub>b</sub>-O-R<sub>c</sub>, OCONR<sub>a</sub>R<sub>b</sub>-O-R<sub>c</sub>, -NR<sub>c</sub>CONR<sub>a</sub>R<sub>b</sub>-O-R<sub>d</sub>, -NR<sub>a</sub>COR<sub>b</sub>-O-R<sub>c</sub>, -OR<sub>a</sub>-S-R<sub>b</sub>, -NR<sub>a</sub>R<sub>b</sub>-S-R<sub>c</sub>, -SO<sub>1,2,3,4</sub>R<sub>a</sub>-S-R<sub>b</sub>, -COR<sub>a</sub>-S-R<sub>b</sub>, -OCOR<sub>a</sub>-S-R<sub>b</sub>, -OCOR<sub>a</sub>-S-R<sub>b</sub>, NR<sub>a</sub>COR<sub>b</sub>-S-R<sub>c</sub>, -CONR<sub>a</sub>R<sub>b</sub>-S-R<sub>c</sub>, -NR<sub>a</sub>CONR<sub>b</sub>R<sub>c</sub>-S-R<sub>d</sub>, -OR<sub>a</sub>-NR<sub>b</sub>R<sub>c</sub>, -NR<sub>a</sub>R<sub>b</sub>-NR<sub>c</sub>R<sub>d</sub>, -SO<sub>1,2,3,4</sub>R<sub>b</sub>-NR<sub>b</sub>R<sub>c</sub>, -COR<sub>a</sub>-NR<sub>b</sub>R<sub>c</sub>, -COOR<sub>a</sub>-NR<sub>b</sub>R<sub>c</sub>, -OCOR<sub>a</sub>-NR<sub>b</sub>R<sub>c</sub>, -OCOOR<sub>a</sub>-NR<sub>b</sub>R<sub>c</sub>, -NR<sub>a</sub>CONR<sub>b</sub>R<sub>c</sub>-NR<sub>d</sub>, -NR<sub>a</sub>COOR<sub>b</sub>-NR<sub>c</sub>R<sub>d</sub>, -OCONR<sub>a</sub>R<sub>b</sub>-NR<sub>c</sub>R<sub>d</sub>, -NR<sub>a</sub>CONR<sub>b</sub>R<sub>c</sub>-NHR<sub>d</sub>, -NR<sub>a</sub>COOR<sub>b</sub>-NR<sub>c</sub>R<sub>d</sub>, -POOR<sub>a</sub>OR<sub>b</sub>, -NR<sub>c</sub>POOR<sub>a</sub>OR<sub>b</sub>,

wobei R<sub>a</sub>, R<sub>b</sub>, R<sub>c</sub> und R<sub>d</sub> unabhängig voneinander wie oben definiert (Cyclo-)Alkyl, Alkenyl, Akynyl, Aroyl, Heteroaroyl, ein Heterocyclus, Aralkyl, Aralkenyl oder Perhalogenalkyl sein können und wobei R<sub>a</sub>, R<sub>b</sub>, R<sub>c</sub> und R<sub>d</sub> substituiert sein können.

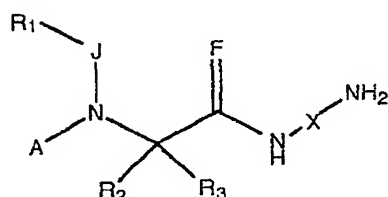
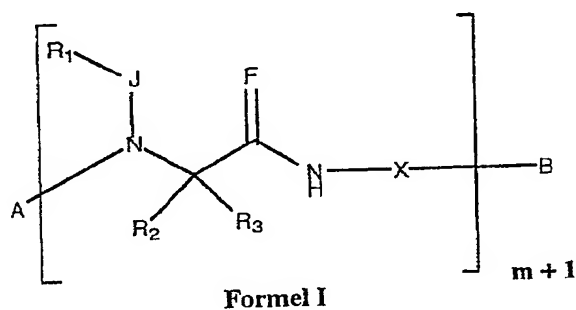
Das erfindungsgemäße Verfahren betrifft also die Herstellung von Mono-, Oligo- und Polymeren, die Nucleobasen als Seitengruppen aufweisen, insbesondere von Peptide Nucleic Acid (PNA) und deren Varianten mittels Multi Komponenten Reaktionen (MCR's), speziell MCR's auf Isocyanid-Basis wie der Ugi-Reaktion. Dabei wird nicht wie bei herkömmlichen Verfahren auf Monomere zurückgegriffen sondern mit kleineren Bausteine als bisher üblich gearbeitet, sog. Submonomeren. Das hier vorgestellte Verfahren erlaubt eine verbesserte Synthese der bisher beschriebenen PNA Varianten und v.a. die rasche Synthese neuer bisher nicht beschriebener Varianten mit potentiell verbesserten und/oder neuen Eigenschaften. Aufgrund der Multikomponenten-Natur dieses Verfahrens ist der gleichzeitige Einbau vieler verschieden gearteter Reste in quasi kombinatorischer Manier z. B. in das Polyamid-Rückgrat der PNA, sowie mit geeigneten weiter unten beschriebenen Synthesebausteinen der Aufbau von (PNA)<sub>2</sub>-, (PNA (DNA))-, (PNA)(RNA)-, (PNA)(Peptid)-, (PNA)<sub>2</sub>(DNA)-, (PNA)((Oligo)Saccharid)-, (PNA)<sub>2</sub>(DNA) (Peptid)-Chimaeren etc., sowie der Aufbau von veränderten PNA-Polymerückgraten wie z. B. Thioamiden möglich. Nach dem beschriebenen Verfahren hergestellte kürzere Oligomere oder gar Monomere sind potentiell pharmakologisch oder agrochemisch relevante Wirkstoffe.

Das hier beschriebene Verfahren beruht auf Isocyanid-gestützten Multikomponenten Reaktionen (MCR's) vom Typ der Vier Komponenten Kondensation oder Ugi-Reaktion (Isocyanide Chemistry, (I. Ugi, ed.), Wiley, New York, 1971; I. Ugi, R. Karl, in: Comprehensive Organic Synthesis), (B.M. Trost, C. H. Heathcock (ed.), Vol. II, 1083-1109, Pergamon Press, New York 1991). In dieser Reaktion reagieren die vier Eduktkomponenten Isocyanid, Oxoverbindung (Aldehyde oder Ketone), aminartige Verbindungen (z. B. Ammoniak, primäre Amine, sekundäre Amine, Hydrazin und Derivate, Hydroxylamin und Derivate) und geeignete Säurekomponenten (z. B. Carbonsäuren, Kohlensäuremonoester, Wasser, Thiosulfat, Selenwasserstoff, Stickstoffwasserstoffsäure, Cyansäure, Thiocyansäure) zu einheitlichen Produkten, deren zentrales Grundgerüst wesentlich von der Natur der Säurekomponente abhängt. Bemerkenswerterweise können die Reste der einzelnen Komponenten ohne Reaktivitätsverlust in weiten Grenzen variiert werden. So reagieren sterisch anspruchsvolle oder kleine, aromatische, heteroaromatische wie auch aliphatische oder heterocyclische, elektronenziehende oder elektronenschiebende Edukte gleichermaßen in der Ugi Reaktion. Verwandte auf Isocyaniden basierende MCR's sind die Passerini Reaktion (I. Ugi in, Isocyanide Chemistry, (I. Ugi, ed.), Wiley, New York, 1971), sowie eine Reihe von Heterocyclensynthesen (S. Marcaccini, T. Torroba, OPPI, 143.).

Mit Hilfe dieses Verfahrens können Homo- und Heteropolymere der allgemeinen Formel I wie im Schema I gezeigt hergestellt werden.

**Schritt I:****Schritt II:****Schritt III:**

wiederhole Schritt I und II m mal, wobei

= A-NH<sub>2</sub> von Schritt I bedeutet**Schema I**

Das Verfahren zur Herstellung von Homo- und Heteropolymeren der allgemeinen Formel I ist dadurch gekennzeichnet, daß vier verschiedene Verbindungen mit geeigneten funktionellen Gruppen gegebenenfalls synchron gegebenenfalls mehrfach miteinander umgesetzt werden. Nach dem ersten Schritt, d. h. der gegebenenfalls synchron erfolgenden Umsetzung der Verbindungen II, III, IV und V, wird das Produkt des jeweils vorangegangenen Schrittes dann an Stelle der Verbindung der Formel II eingesetzt. Um zu Heteropolymeren zu gelangen, weisen die Verbindungen nicht in allen Syntheseschritten die gleichen Reste oder funktionellen Gruppen auf.

Die Synthesen der unter Formel I gezeigten Verbindungsklassen kann auf Oberflächen, in flüssiger Phase oder an polymeren Trägern durchgeführt werden.

Die Synthese der Verbindungen der Formel I kann weiter auf sogenannten Chips erfolgen:

dabei wird ein Substrat hergestellt, auf dem in einem ersten Bereich eine Verbindung, ausgewählt aus Verbindungen der Formel II, III, IV und V, aufgebracht wird, die Schutzgruppen aufweisen, welche mit Aktivatoren entfernt werden können; dieser Schritt gegebenenfalls auf anderen Bereichen der Oberfläche jeweils mit einer anderen der (eine) entsprechende



Schutzgruppe(n) aufweisenden Verbindungen II, III, IV und V wiederholt, ein Bereich des gegebenenfalls eine oder mehrere der Verbindungen II, III, IV und V aufweisenden Oberfläche einem Aktivator ausgesetzt, um mindestens eine Schutzgruppe zu entfernen, dieser Bereich einer Verbindung der Formel II, III, IV oder V ausgesetzt, die wiederum eine lichtempfindliche Schutzgruppe aufweist, und dieser Schritt gegebenenfalls in anderen Bereichen mit einer beliebigen Kombination der Verbindungen der Formel II, III, IV und V wiederholen.

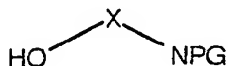
Das Substrat kann dabei ein polymerisierter Langmuir Blodgettfilm, ein funktionalisiertes Glas, Germanium, Silizium, Polymere, (Poly-)tetrafluorethylen, Polystyrol, Galliumarsenit oder Kombinationen davon sein; als Aktivatoren kommen Ionenstrahlen, Elektronenstrahlen,  $\gamma$ -Strahlen, Röntgenstrahlen, Ultraviolette Strahlen, Licht, Infrarotstrahlen, Mikrowellen, elektrische Ströme, Radiowellen und Kombinationen davon in Betracht.

Als lichtempfindliche Schutzgruppen kommen z. B. orto-Nitrobenzylidderivate, 6-Nitroveratryloxycarbononyl, 2-Nitrobenzylloxycarbononyl, Zinnamoylderivate und Gemische davon in Betracht.

Weiter wird bzgl. der zu verwendenden Substrate der einzusetzenden Aktivatoren, der lichtempfindlichen Schutzgruppen und der Bedingungen, bei denen die einzelnen Schritte durchgeführt werden, auf die folgenden Druckschriften voll inhaltlich Bezug genommen: WO 90/15070, WO 91/07087, WO 92/10092, EP 0 728 520.

Vorteile von PNA-Chips gegenüber DNA-Chips sind u. a. die wesentlich bessere Erkennung von Mutationen in der zu untersuchenden DNA, sowie die größere Stabilität von PNA-Chips verglichen mit DNA-Chips.

Der Aufbau eines DNA- oder RNA-Stranges in A erfolgt nach den dem Fachmann bekannten Verfahren, wie der Triester-Methode, der H-Phosphonat-Methode oder Phosphoamidit-Methode, bevorzugt nach der Standard-Phosphoamidit Methode nach Caruthers (M. H. Caruthers et al., J. Am. Chem. Soc., 103, 3185 (1981)). Als Linkerbaustein zur Verbindung zur herkömmlichen in Schema I synthetisierten PNA kann folgende Verbindung dienen:

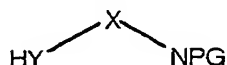


wobei x ein gegebenenfalls substituiertes Alkyl, Cycloalkyl, (Cyclo-)Alkenyl, (Cyclo-)Alkynyl, Aroyl, Heteroaroyl, oder Heterocyclus bedeutet

PG eine Schutzgruppe ist, die mit einem synthetisierten DNA- oder RNA- oder sonstigem Antisense Polymer Strang kompatibel sein muß, und z. B. Dimethoxytrityl, Fmoc, Moc, 5-Dimethoxybenzylcarbamate, o- oder m-Nitrophenylcarbamate wie Nvoc oder 3,4-Dimethoxy-6-nitrobenzylcarbamate oder Phenyl(o-nitrophenyl)methylcarbamate bedeutet.

Der Aufbau eines Peptidstranges in A erfolgt nach den dem Fachmann bekannten Verfahren, wie der Merrifield Methode (E. Atherton, R. C. Sheppard, Solid Phase Peptide Synthesis – A Practical Approach, IRL Press, New York, 1989). Als Linkerbaustein zur Verbindung zur herkömmlichen in Schema I synthetisierten PNA kann jede natürliche oder synthetische N-geschützte Aminosäure dienen. Nach Abspaltung der Schutzgruppe wird im Anschluß an den Peptidstrang ein PNA-Strang nach der im Schema I skizzieren Methodik hergestellt.

Der Aufbau eines Oligosaccharidstranges in A erfolgt nach den dem Fachmann bekannten Verfahren, wie z. B. der Schmidtschen Trichloracetimidat-Methode oder der Ringöffnung von Epoxiden (P. Collins, R. Ferrier, Monosaccharides, Wiley, New York 1996, 415–430). Als Linkerbaustein zur Verbindung zur herkömmlichen in Schema I synthetisierten PNA kann z. B.



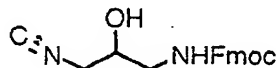
wobei X ein gegebenenfalls substituiertes Alkyl, Cycloalkyl, (Cyclo-)Alkenyl, (Cyclo-)Alkynyl, Aroyl, Heteroaroyl, oder Heterocyclus bedeutet,

Y ein Nucleophil wie S, O, NR mit R = ein gegebenenfalls substituiertes Alkyl, Cycloalkyl, (Cyclo-)Alkenyl, (Cyclo-)Alkynyl, Aroyl, Heteroaroyl, Heterocyclus oder -CHPL bedeutet, wobei P und L unabhängig voneinander -CN, -NC, -COOR, -PO(OR)<sub>2</sub> oder -SO<sub>2</sub>R bedeuten,

PG eine Schutzgruppe ist, die mit einem synthetisierten Oligosaccharid Strang kompatibel sein muß, und z. B. Dimethoxytrityl, Fmoc oder Pmoc oder Nvoc bedeuten.

Die Gruppe X in der Formel V kann Ausgangspunkt für eine weitere DNA-, RNA-, PNA- oder Peptid- oder eine andere Oligomer- oder Polymer-Synthese sein.

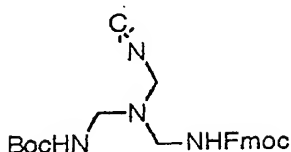
Der Aufbau eines DNA- oder RNA-Stranges in X erfolgt nach den dem Fachmann bekannten Verfahren, wie der Triester-Methode, der H-Phosphonat-Methode oder Phosphoamidit-Methode, bevorzugt nach der Standard-Phosphoamidit Methode nach Caruthers (M. H. Caruthers et al., J. Am. Chem. Soc., 103 3185 (1981)). Als Linkerbaustein zur Verbindung zur herkömmlichen in Schema I synthetisierten PNA kann z. B. folgende Verbindung der allgemeinen Formel CN-X-NPG dienen:



wobei die Hydroxygruppe als Anker für die folgende RNA/DNA oder Phosphothioat Antisense Synthese dient.

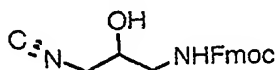
Der Aufbau eines Peptidstranges oder eines weiteren PNA Stranges in X erfolgt nach den dem Fachmann bekannten Verfahren, wie der Merrifield Methode (E. Atherton, R. C. Sheppard, Solid Phase Peptide Synthesis – A Practical Approach, IRL Press, New York, 1989) bzw. der in Schema I beschriebenen Methode (PNA). Als Linkerbaustein kann jedes Isocyanid mit einer geschützten Aminfunktion wie z. B. folgendes trifunktionelles Isocyanid der allgemeinen Formel

CN-X-NPG dienen:

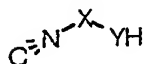


10 Nach vollzogener Ugi Reaktion mit dem Isocyanid wird z. B. die Fmoc Schutzgruppe abgespalten und ein Peptid- oder PNA-Strang aufgebaut. Nach Beendigung der Seitenketten Synthese wird durch Abspalten der Boc Schutzgruppe die PNA der Hauptkette weiter synthetisiert.

Der Aufbau eines Oligosaccharidstranges in X erfolgt nach den dem Fachmann bekannten Verfahren, wie z. B. der Schmidtschen Trichloracetimidat-Methode oder der Ringöffnung von Epoxiden (P. Collins, R. Ferrier, Monosaccharides, Wiley, New York 1996, 415-430). Als Linkerbaustein kann z. B. folgendes trifunktionelles Isocyanid der allgemeinen Formel CN-X-NPG dienen:



wobei die Glycolysierung an der freien Hydroxyfunktion stattfindet oder folgendes Isocyanid der allgemeinen Formel CN-X-NPG dienen:

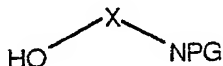


wobei die Glycolysierung über die nucleophile Y-Gruppe stattfindet,

X substituiertes Alkyl, Cycloalkyl, (Cyclo-)Alkenyl, (Cyclo-)Alkynyl, Aroyl, Heteroaroyl, Heterocyclus,

30 Y ein Nucleophil wie S, O, NR mit R = substituiertes Alkyl, Cycloalkyl, (Cyclo-)Alkenyl, (Cyclo-)Alkynyl, Aroyl, Heteroaroyl, Heterocyclus oder -CHPL ist, wobei P und L unabhängig voneinander -CN, -NC, -COOR, -PO(OR)<sub>2</sub> oder -SO<sub>2</sub>R bedeuten.

Der Aufbau eines DNA- oder RNA-Stranges in B erfolgt nach den dem Fachmann bekannten Verfahren, wie der Triester-Methode, der H-Phosphonat-Methode oder Phosphoamidit-Methode, bevorzugt nach der Standard-Phosphoamidit Methode nach Caruthers (M. H. Caruthers et al., J. Am. Chem. Soc., 103 3185 (1981)). Als Linkerbaustein zur Verbindung zur herkömmlichen in Schema I synthetisierten PNA Synthese kann z. B. folgende Verbindung der allgemeinen Formel CN-X-NPG dienen:



wobei X substituiertes Alkyl, Cycloalkyl, (Cyclo-)Alkenyl, (Cyclo-)Alkynyl, Aroyl, Heteroaroyl oder Heterocyclus bedeutet,

45 PG eine Schutzgruppe ist, die mit einem synthetisierten DNA oder RNA oder sonstigem Antisense Polymer Strang kompatibel sein muß, und z. B. Dimethoxytrityl, Fmoc, Moc, 5-Dimethoxybenzylcarbamate, oder o- und m-Nitrophenylcarbamate wie Nvoc oder 3,4-Dimethoxy-6-nitrobenzylcarbamate oder Phenyl(o-nitrophenyl)methylcarbamate bedeutet, wobei die Hydroxygruppe als Anker für die folgende RNA/DNA oder Phosphothioat Antisense Synthese dient.

Flüssigphasenverfahren werden bevorzugt zum Aufbau kürzerer aber großer Mengen von Oligomeren herangezogen, während Festphasenverfahren für den Aufbau langer und kleiner bis großer Mengen von Oligomeren geeignet sind und Oberflächenverfahren für den Aufbau langer und kleiner Mengen von Oligomeren geeignet sind.

#### Experimentelle Bedingungen der Flüssig-Phasen Synthese

55 In flüssiger Phase wird die Aminkomponente mit der Oxokomponente, der Säurekomponente und einer geeignet substituierten amingeschützten Isocyanoaminkomponente entsprechend dem Formelschema I umgesetzt. Vorteilhaft werden dabei je ein Äquivalent der vier verschiedenen Komponenten zueinandergegeben und damit zur Reaktion gebracht. Vorteilhaft ist auch die Amin und die Oxokomponenten zur Schiff'schen Base vorzukondensieren. Als Lösungsmittel eignen sich aprotisch polar wie unpolare sowie protisch polare Lösungsmittel wie z. B. Alkohole wie Wasser, Methanol, Ethanol, Propanol, Ethylenglycol, Glycerin, Trifluorethanol und aprotisch polare Lösungsmittel wie z. B. Pyridin, N-Methylmorpholin, Methylenchlorid, Chloroform, Dimethylformamid, Dimethylsulfoxid, Acetonitril, Ethylenglycol-dimethylether oder auch Mischungen derselben wie z. B. Ethylenglycoldimethylether/Glycerin oder die Schiffbasenbildung fördernde Lösungsmittel wie Trimethylorthoformiat. Acylierungskatalysatoren wie z. B. Pyridin oder 4-Dimethylaminopyridin erweisen sich als reaktionsfördernd bei der Ugi Reaktion. Auch Lewis Säuren wie ZnCl<sub>2</sub>, TiCl<sub>4</sub>, ZrCl<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> usw. erweisen sich als reaktionsfördernd bei der Ugi Reaktion. Die Reaktionstemperatur kann -20°C und +100°C, bevorzugt jedoch 10-40°C betragen. Die Reaktionszeit beträgt je nach Reaktivität der Komponenten Sekunden bis mehrere Tage. Vorteilhaft wird die Ugi Reaktion konzentriert durchgeführt, d. h. die Konzentrationen der Einzelkomponenten betragen 0.1M bis 4M.

## Experimentelle Bedingungen der Fest-Phasen Synthese

Polymere für die Fest-Phasen Synthese von Nucleobasenpolymeren können z. B. Polystyrol, Polyethylenglycol, Polyethylenglycol-Polystyrol Copolymere, Polyacrylamid, Controlled Porous Glass (CPG), Teflon, Polyethylen, Polypropylen, Nylon, Cellulose sein. Geeignete Linker sind z. B. Aminomethyl, 4-Methylbenzhydramin (MBHA), 4-(2',4'-Dimethoxyphenyl-Fmoc-aminomethyl)-phenoxyacetamido-norleucylaminomethyl (Rink Amide AM), 4-(2',4'-Dimethoxyphenyl-Fmoc-aminomethyl)-phenoxyacetamido-norleucyl-MBHA (Rink Amide MBAH), 4-(2',4'-Dimethoxyphenyl-Fmocaminomethyl)-phenoxy (Rink Amid), 9-Fmoc-amino-xanthen-3-yloxy (Sieber Amid), Hydrazine-2-chlorotriyl, 4-Sulfamylbenzoyl AM, 4-Sulfamylbutyryl AM, Bis-(2-aminoethyl)-ethertriyl, 1,3-Bis-(aminomethyl-phenyl)triyl, oder mit N-terminal geschützten Aminosäuren beladene Harze.

Die Edukte der Synthese können in verschiedensten im vorhergehenden Abschnitt genannten, mit den Quelleigenschaften der Polymere kompatiblen Lösungsmitteln vorliegen. Bezogen auf die Beladung des Polymer werden die Edukte im 2-20-fachen Überschuß eingesetzt. Auch Lewis Säuren wie  $ZnCl_2$ ,  $TiCl_4$ ,  $ZrCl_2 \cdot 2H_2O$  usw. erweisen sich als reaktionsfördernd bei der Ugi Reaktion. Die Reaktionstemperatur kann  $-20^\circ C$  und  $+100^\circ C$ , bevorzugt jedoch  $10-40^\circ C$  betragen. Die Reaktionszeit beträgt je nach Reaktivität der Komponenten Sekunden bis mehrere Tage. Vorteilhaft wird die Ugi Reaktion konzentriert durchgeführt, d. h. die Konzentrationen der Einzelkomponenten betragen 0.1M bis 4M.

## Experimentelle Bedingungen der Synthese an Oberflächen

Die Oberflächen müssen durch Linker für die Polymersynthese modifiziert werden. Mögliche Oberflächen sind z. B. Glasoberflächen, Polymeroberflächen wie Teflon, Polyethylen, Polypropylen, Nylon, Cellulose. Vorteilhaft werden über einen Linker Photoschutzgruppen auf der Oberfläche angebracht. Durch Entfernung der Schutzgruppen eines selektiven Bereiches der Oberfläche kann mit dem in Schema I beschriebenen Verfahren zum Aufbau von PNAs begonnen werden. Vorteilhaft sind alle Schutzgruppen der einzelnen Komponenten Photoschutzgruppen wie in nachfolgender Abbildung gezeigt.

## Vorteile und mögliche Anwendungen der beschriebenen Erfindung

Das hier vorgestellte Verfahren zur Herstellung von Polymeren mit Nucleobasen als Seitengruppen unter Anwendung von Multikomponenten Reaktionen übertrifft in der Syntheseeffektivität und der Zugänglichkeit neuer PNAs alle bisher beschriebenen Verfahren. Die bisher beschriebenen PNA Varianten besitzen viele Nachteile für eine Anwendung als Antisense und Antigene Wirkstoffe. Am effektivsten kann nach neuen verbesserten Varianten mit dem hier vorgestellten Verfahren gesucht werden. Da bei bisherigen Verfahren über mehrere Stufen herzustellende Monomere zu den PNAs polymerisiert wurden ist die Variationseffektivität verglichen mit dem hier vorgestellten Verfahren wesentlich geringer. Bei dem vorgestellten Verfahren wird eine Monomereinheit aus vier verschiedenen Komponenten in einem Schritt hergestellt. Da die Edukte der Ugi Reaktion in großer Vielfalt kommerziell erhältlich sind oder einfach in ein bis zwei Stufen aus kommerziell erhältlichen Verbindungen leicht zugänglich sind können in der gleichen Zeit bei vergleichbarem Aufwand wesentlich mehr Varianten hergestellt werden.

Über das hier vorgestellte kombinatorische Verfahren dargestellte Monomer oder Di- und Trimere können potente Virostatika oder Cancerostatika dargestellt werden.

## Beispiele

Die verwendeten Abkürzungen sind nachfolgend aufgelistet.

Alloc: Allyloxycarbonyl  
 Boc: tert.-Butyloxycarbonyl  
 Boc<sub>2</sub>O: Pyrokohlensäure-di-tert.-butylester  
 DCM: Dichlormethan  
 DMF: Dimethylformamid  
 Dmt: 4,4'-Dimethoxytriphenylmethyl  
 Fmoc: 9-Fluorenylmethoxycarbonyl  
 FmocONSu: N-(9-Fluorenylmethoxycarbonyloxy)-succinimid  
 Mmt: 4-Methoxytriphenylmethyl  
 Moz: p-Methoxybenzyloxycarbonyl  
 Pixyl: 9-(9-Phenyl)xanthenyl  
 TBDMS: tert.-Butyldimethylsilyl  
 TFA: Trifluoressigsäure  
 Trt: Triphenylmethyl  
 Z: Benzyloxycarbonyl

## Allgemeine Vorschrift zur Synthese der 2-Triylamino-ethyliso-cyanidreste (X)

## Darstellung der 2-Triylethylendiamine

Zu 12.20 g (200 mmol) Ethylendiamin in 500 ml THF werden bei RT langsam 40 mmol des jeweiligen Triylchlorides (Triphenylmethylchlorid, 4-Methoxytriphenylmethylchlorid, 4,4'-Dimethoxytriphenylmethylchlorid), welches in 500 ml THF gelöst wurde, getropft. Danach wird 12 h bei RT gerührt, das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt, der ölige, leicht gelbe bis orange Rückstand in 500 ml Essigester aufgenommen und je dreimal mit 250 ml gesät-

tigter Natriumchloridlösung extrahiert. Die organische Phase wird mit Natriumsulfat getrocknet. Nach Entfernen des Lösungsmittels wird das jeweilige Amin als Öl bzw. Schaum in Ausbeuten von 50–95% erhalten.

N-Tritylethylendiamin

$C_{21}H_{22}N_2$  (288.42)

- 5  $R_F = 0.21$  (DCM/MeOH 5 : 1, v,v); Spot färbt mit Ninhydrinspray bzw. mit HCl-Dampf)

N-(4-Monomethoxytrityl)ethylendiamin

$C_{22}H_{24}N_2O$  (332.45)

$R_F = 0.21$  (DCM/MeOH 5 : 1, v,v); Spot färbt mit Ninhydrinspray bzw. mit HCl-Dampf)

N-(4,4'-Dimethoxytrityl)ethylendiamin

- 10  $C_{23}H_{26}N_2O_2$  (362.48)

$R_F = 0.22$  (DCM/MeOH 5 : 1, v,v); Spot färbt mit Ninhydrinspray bzw. mit HCl-Dampf)

#### Darstellung der 2-Tritylaminoethylformamide

- 15 190 mmol des jeweiligenamins werden in 300 ml Ameisensäureethylester 12 h refluxiert (Ölbadtemperatur 75°C). Nach Entfernen des überschüssigen Esters am Rotationsverdampfer wird das jeweilige Formamid als stabiler bzw. klebriger, gelber bis oranger Schaum erhalten. Die Ausbeuten liegen zwischen 80 und 95%.

2-Tritylaminoethylformamid

$C_{22}H_{22}N_2O$  (330.42)

- 20  $R_F = 0.87$  (DCM/MeOH 5 : 1, v,v); Spot färbt mit Ninhydrinspray bzw. mit HCl-Dampf)

2-(4-Monomethoxytrityl)aminoethylformamid

$C_{23}H_{24}N_2O_2$  (360.46)

$R_F = 0.86$  (DCM/MeOH 5 : 1, v,v); Spot färbt mit Ninhydrinspray bzw. mit HCl-Dampf)

$^1H$ -NMR ( $CDCl_3$ , 250.133 MHz): = 1.70 (br s, 1H); 2.32 (tr, 2H, J = 6.0 Hz); 3.37 (m, 2H); 3.76 (s, 3H); 5.99 (br s, 1H);

- 25 6.78–7.49 (m, 14H); 8.17 (s, 1H).

$^{13}C$ -NMR ( $CDCl_3$ , 62.896 MHz):

= 38.7 ( $CH_2$ ); 43.1 ( $CH_2$ ); 55.2 ( $CH_3$ ); 70.2 (C); 113.2 (CH); 126.4 (CH); 127.9 (CH); 128.3 (CH); 129.7 (CH); 137.8 (C); 145.9 (C); 158.0 (C); 164.7 (CHO).

2-(4,4'-Dimethoxytrityl)aminoethylformamid

- 30  $C_{24}H_{26}N_2O_3$  (390.49)

$R_F = 0.92$  (DCM/MeOH 5 : 1, v,v); Spot färbt mit Ninhydrinspray bzw. mit HCl)

#### Darstellung der 2-Tritylaminoethylisonitrile

- 35 180 mmol des jeweiligen Formamides werden in 250 ml Methylenchlorid gelöst. Nach Zugabe von 400 mmol TEA kühlt man auf 0°C, tropft langsam 180 mmol Phosphoroxychlorid zu und läßt weiter bei dieser Temperatur zwei Stunden rühren. Dann werden bei 20°C 340 mmol Natriumcarbonat in 150 ml Wasser langsam unter starkem Rühren hinzugefügt und es wird noch 30 min bei RT nachgerührt. Die wäßrige Phase wird auf 400 ml verdünnt und zweimal mit je 150 ml DCM extrahiert. Nach Waschen der organischen Phase mit gesättigter NaCl-Lösung, Trocknen über Kaliumcarbonat und

- 40 Abziehen des Lösungsmittels resultieren die jeweiligen Isonitrile als Schaum in 85–95% Ausbeute.

2-Tritylaminoethylisocyanid

$C_{22}H_{20}N_2$  (312.42)

$R_F = 0.90$  (DCM/MeOH 5 : 1, v,v); Spot färbt mit Ninhydrinspray bzw. mit HCl-Dampf)

2-(4-Monomethoxytrityl)aminoethylisocyanid

$C_{23}H_{22}N_2O$  (342.44)

$R_F = 0.89$  (DCM/MeOH 5 : 1, v,v); Spot färbt mit Ninhydrinspray bzw. mit HCl-Dampf)

2-(4,4'-Dimethoxytrityl)aminoethylisocyanid

$C_{24}H_{24}N_2O_2$  (372.47)

$R_F = 0.95$  (DCM/MeOH 5 : 1, v,v); Spot färbt mit Ninhydrinspray bzw. mit HCl-Dampf)

- 50

#### Allgemeine Vorschrift zur Synthese der N-Acylethylisocyanide

##### N-(tert.-Butyloxycarbonyl)ethylendiamin

- 55 Zu einer Lösung von 2.0 mol Ethylendiamin in 700 ml THF werden bei RT 0.25 mol  $Boc_2O$  in 500 ml THF innerhalb von 12–48 h getropft. Die Lösung wird vom ausgefallenen Feststoff abdekantiert und das Lösungsmittel abgezogen. Der Rückstand und der ausgefallene Feststoff werden in 500 ml Wasser gelöst und die entstandene Suspension filtriert. Die wäßrige Phase wird dreimal mit je 150 ml DCM extrahiert, mit konzentrierter NaCl-Lösung gewaschen, getrocknet und einrotiert. Es resultieren 36 g eines Öls (90% bez. auf  $Boc_2O$ ).

- 60

##### N-(tert.-Butyloxycarbonyl)aminoethylformamid

- 65 21.8 mmol N-(tert.-Butyloxycarbonyl)ethylendiamin werden in 50 ml Ameisensäureethyl- oder -methylester gelöst und p-Toluolsulfonsäure als Katalysator zugegeben. Diese Mischung wird 12 h lang refluxiert. Nach Einrotieren der Lösung wird der Rückstand in 100 ml DCM oder Essigester aufgenommen, zweimal mit Wasser gewaschen, getrocknet und das Lösungsmittel abgezogen. Es werden 3.86 g eines Öls erhalten, das allmählich auskristallisiert (94% Ausbeute).  
Fp.: 84–86°C

## 2-(N-tert.-Butyloxycarbonyl)aminoethylisonitril

Die Darstellung des Isonitrils erfolgt nach o.g. Vorschrift.

Es resultiert nahezu quantitativ ein Öl, das allmählich auskristallisiert.

<sup>1</sup>H-NMR (250 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 1.42 (s, 9H, CH<sub>3</sub>), 2.92 (m, 2H, CH<sub>2</sub>), 3.40 (m, 2H, CH<sub>2</sub>), 5.00 (s, 1H, NH).

<sup>13</sup>C-NMR (62 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 28.1 (CH<sub>3</sub>); 38.1 (t, <sup>1</sup>J = 7.5 Hz, CH<sub>2</sub>-NC), 39.0 (CH<sub>2</sub>-NH), 80.0 (C), 155.8 (CO), 156.2 (t, <sup>1</sup>J = 5.5 Hz, NC).

Nach obigen Vorschriften werden folgende Verbindungen in analoger Weise hergestellt:

## 3-(N-tert.-Butyloxycarbonyl)aminopropylisonitril

<sup>1</sup>H-NMR (250 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 1.44 (s, 9H, CH<sub>3</sub>), 1.89 (m, 2H, CH<sub>2</sub>), 3.26 (q, 2H, <sup>3</sup>J = 6.2 Hz, CH<sub>2</sub>), 3.46 (m, 2H, CH<sub>2</sub>), 4.92 (s, 1H, NH). <sup>13</sup>C-NMR (62 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 28.2 (CH<sub>3</sub>); 29.4 (CH<sub>2</sub>), 38.1 (t, <sup>1</sup>J = 7.6 Hz, CH<sub>2</sub>-NC), 39.0 (CH-NH), 79.4 (C), 155.9 (CO), 156.4 (t, <sup>1</sup>J = 5.3 Hz, NC).

## 6-(N-tert.-Butyloxycarbonyl)aminohexylisonitril

<sup>1</sup>H-NMR (250 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 1.36 (m, 6H, CH<sub>2</sub>), 1.44 (s, 9H, CH<sub>3</sub>), 1.89 (m, 2H, CH<sub>2</sub>), 3.27 (m, 2H, CH<sub>2</sub>), 3.47 (m, 2H, CH<sub>2</sub>), 5.02, 4.92 (2s, 1H, NHCO-Rotamere).

<sup>13</sup>C-NMR (62 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 28.2 (CH<sub>3</sub>), 28.3 (CH<sub>2</sub>), 29.5 (CH<sub>2</sub>), 30.5 (CH<sub>2</sub>), 38.2 (t, <sup>2</sup>J = 6.7 Hz, CH<sub>2</sub>-NC), 39.0 (CH<sub>2</sub>-NH), 77.4 (C), 156.2 (CO), 156.4 (t, <sup>2</sup>J = 5.3 Hz, NC).

## 8-(N-tert.-Butyloxycarbonyl)aminooctylisonitril

<sup>1</sup>H-NMR (250 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 1.31 (m, 10H, CH<sub>2</sub>), 1.44 (s, 9H, CH<sub>3</sub>), 1.69 (m, 2H, CH<sub>2</sub>), 3.11 (m, 2H, CH<sub>2</sub>-NC), 3.37 (m, 2H, CH<sub>2</sub>-NHCO), 4.57 (s, 1H, NH).

<sup>13</sup>C-NMR (62 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 26.5 (CH<sub>2</sub>), 26.6 (CH<sub>2</sub>), 28.5 (CH<sub>3</sub>), 28.9 (CH<sub>2</sub>), 29.0 (CH<sub>2</sub>), 29.1 (CH<sub>2</sub>), 29.9 (CH<sub>2</sub>), 40.5 (CH<sub>2</sub>-NC), 41.5 (CH<sub>2</sub>-NH), 77.4 (C), 156.6 (CO), 155.9 (NC).

## N-1-(4-Methoxybenzyloxycarbonyl)-N'-2-formylethylendiamin

Synthese von N-(4-Methoxybenzyloxycarbonyl)-ethylendiamin nach Vorschrift [L.S. Richter, R.N. Zuckermann, Bio-org. Med. Chem. Lett., 5, 1159-1162 (1995)], wobei die organische Methylenchloridphase 2 × mit 100 ml gesättigte Kochsalzlösung gewaschen wird. Ausbeute: 7.1 g, 64% (Lit.: 6.0 g, 54%).

7.1 g N-(4-Methoxybenzyloxycarbonyl)-ethylendiamin werden in 100 ml Ameisensäureethylester 3 Stunden und einer Spatelspitze 4-Dimethylaminopyridin unter Rückfluß gekocht. Der überschüssige Ameisensäureethylester wird am Rotationsverdampfer unter Vakuum abgezogen. Der verbleibende Feststoff wird in 100 ml CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> aufgenommen und mit 30 ml H<sub>2</sub>O ausgeschüttelt. Die organische Phase wird mit Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet und unter Vakuum einrotiert. Das verbleibende Öl (6.53 g, 81% Ausbeute) kristallisiert nach einiger Zeit und ist rein genug für die weitere Umsetzung.

<sup>1</sup>H-NMR (250 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 3.37 (m, 4H), 3.80 (s, 3H), 5.02 (s, 2H), 5.28 (s, br, 1H), 6.32 (s, br, 1H), 6.87 (m, 2H), 7.27 (m, 2H), 8.14 (s, br, 1H).

<sup>13</sup>C-NMR (62 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 39.0, 40.6, 55.3, 66.8, 113.9, 128.4, 129.9, 159.7, 161.8, 163.4.

R<sub>f</sub> (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 9/1): 0.6.

## N-1-(4-Methoxybenzyloxycarbonyl)-2-isocyano-1-aminoethan

Zu 6.53 g N-1-(4-Methoxybenzyloxycarbonyl)-N'-2-formylethylendiamin (25.9 mmol) und 10.85 ml Triethylamin (78 mmol) in 100 ml CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, temperiert mit einem Eisbad, werden langsam innerhalb von einer 1/2 h 3.97 g POCl<sub>3</sub> (25.91 mmol) getropft und das Gemisch weitere 4 h lang bei 0°C gerührt. Eine wäßrige Lösung von 5.51 g Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> in 40 ml H<sub>2</sub>O wird langsam bei 0°C zugetropt. Schließlich wird noch 1 h lang bei Raumtemperatur gerührt. Es wird mit weiteren 100 ml Wasser verdünnt, die organische Phase abgetrennt und die wäßrige Phase 2 × mit 50 ml CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit MgSO<sub>4</sub> getrocknet und unter Vakuum einrotiert. Es verbleiben 6.0 g (99%) roter Feststoff, dessen Reinheit ausreichend für die nachfolgenden Reaktionen ist. Eine analytische Probe, umkristallisiert aus Ethylacetat, ergibt einen farblosen Feststoff.

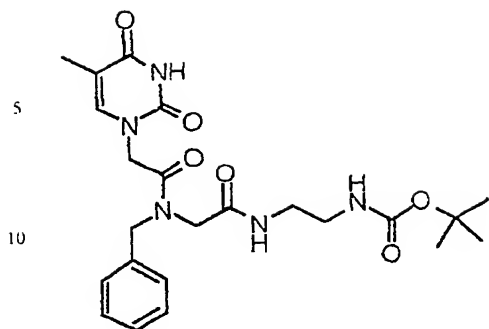
<sup>1</sup>H-NMR (250 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 3.43 (m, 2H), 3.53 (m, 2H), 3.80 (s, 3H), 5.04 (s, 2H), 5.50 (s, br, 1H), 6.88 (m, 2H), 7.28 (m, 2H).

<sup>13</sup>C-NMR (62 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 40.2, 41.8, 55.3, 66.9, 114.0, 128.2, 130.0, 156.4, 159.7.

R<sub>f</sub> (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 9/1): 0.8.

## Beispiel 1

1 mmol Thyminessigsäure, 1 mmol Oxokomponente, 1 mmol Aninkomponente und 1 mmol Isocyanidkomponente werden in 1 ml Methanol 24 h gerührt und das ausgefallene Produkt abfiltriert. Die Ausbeuten können erhöht werden, wenn das Filtrat zur Hälfte eingeeignet wird und nochmals einer Filtration unterzogen wird.



$C_{23}H_{31}N_5O_6$

$M_w$ : 473.53342

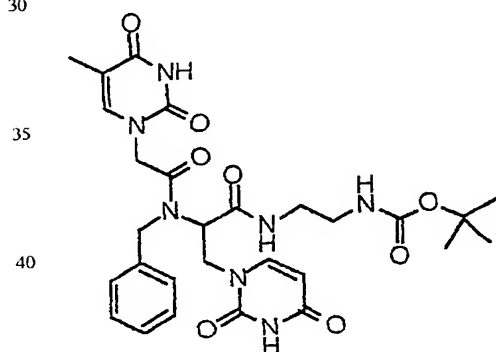
$^1H$ -NMR (360 MHz/ $d_6$ -DMSO): 1.35 (9H, s), 1.76 (3H, s), 2.95–3.1 (4H, m), 3.77 and 3.93 (2H, 2 × s {rotamers}), 4.46, 4.58, 4.62, 4.67, 4.76, 4.80 (4H, 6 × s {rotamers}), 6.78 (1H, m), 7.21–7.39 (6H, m), 7.87 and 8.13 (1H, 2 × tr {rotamers}), 11.29 (1H, s, thymine-NH).

$^{13}C$ -NMR (62.9 MHz): 11.7, 28.1, 47.9, 48.8, 49.5, 77.5, 107.9, 127.1, 127.4, 127.6, 128.2, 128.5, 136.1, 136.8, 142.2, 150.9, 155.5, 158.0, 164.3, 167.2.

ES-MS: 474.0 (m + H)<sup>+</sup>

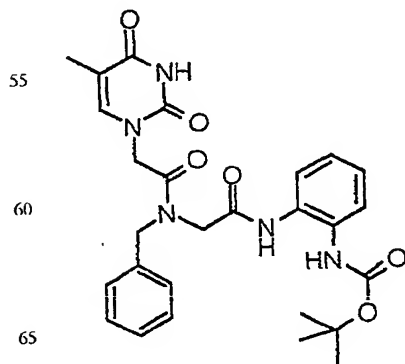
### Beispiel 2

1 mmol Thyminessigsäure, 1 mmol Oxokomponente, 1 mmol Aminkomponente und 1 mmol Isocyanidkomponente werden in 1 ml Methanol 24 h gerührt und das ausgefallene Produkt abfiltriert. Die Ausbeuten können erhöht werden, wenn das Filtrat zur Hälfte eingengt wird und nochmals einer Filtration unterzogen wird.



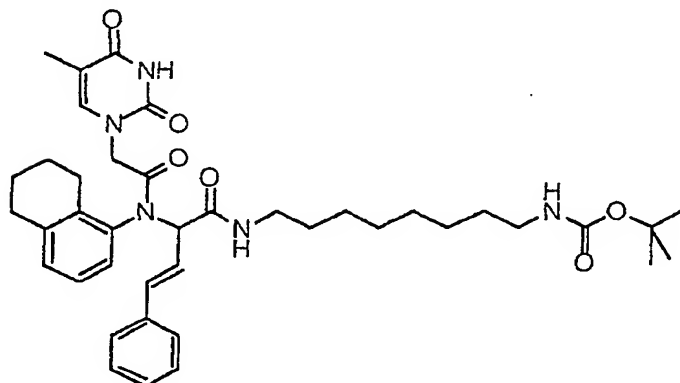
### Beispiel 3

1 mmol Thyminessigsäure, 1 mmol Oxokomponente, 1 mmol Aminkomponente und 1 mmol Isocyanidkomponente werden in 1 ml Methanol 24 h gerührt und das ausgefallene Produkt abfiltriert. Die Ausbeuten können erhöht werden, wenn das Filtrat zur Hälfte eingengt wird und nochmals einer Filtration unterzogen wird.



## Beispiel 4

1 mmol Thyminessigsäure, 1 mmol Oxokomponente, 1 mmol Aminkomponente und 1 mmol Isocyanidkomponente werden in 1 ml Methanol 24 h gerührt und das ausgefallene Produkt abfiltriert. Die Ausbeuten können erhöht werden, wenn das Filtrat zur Hälfte eingeeengt wird und nochmals einer Filtration unterzogen wird.



## Beispiel 5

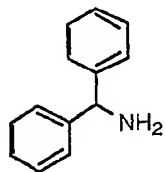
Eine Deep Well Multi Titer Plate aus Polypropylene mit 1 ml Volumen je Vertiefung wird mit Thymine-1-essigsäure in Methanol und 1-Isocyano-2-N-tertbutoxycarbonylethan in Methanol je Vertiefung bestückt. Die Zeilen A-H werden mit den unten abgebildeten Aminen und die Spalten 1-12 mit den unten abgebildeten Oxokomponenten bestückt. Die verschlossenen MTP's werden bei Raumtemperatur geschüttelt und die ausgefallenen Produkte abfiltriert. Zur Erhöhung der Ausbeuten kann das Filtrat noch zur Hälfte eingeeengt werden und die nochmals ausgefallenen Produkte abfiltriert werden. Die Produkte wurden durch HPLC-ES, DC und durch  $^1\text{H}/^{13}\text{C}$ -NMR charakterisiert.

Zeilen mit Aminkomponenten:

Spalten mit Oxokomponente:

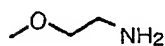
5

A



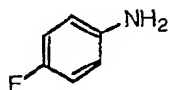
10

B



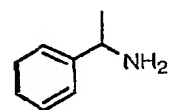
15

C



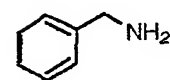
20

D



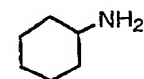
25

E



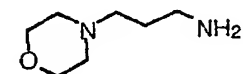
30

F



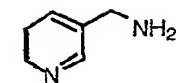
35

G



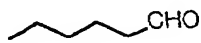
40

H

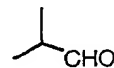


45

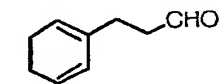
1



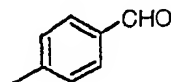
2



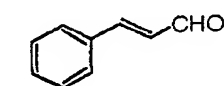
3



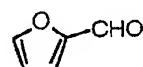
4



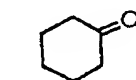
5



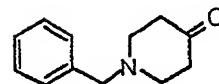
6



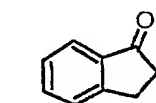
7



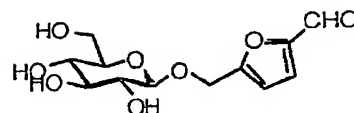
8



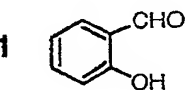
9



10



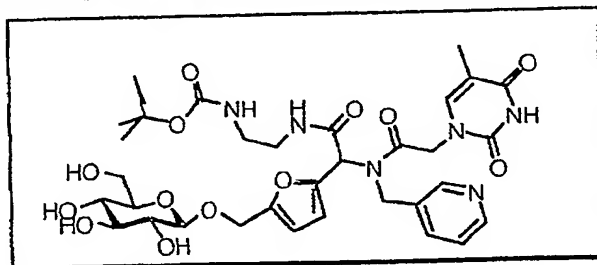
11



12



z.B. in Vertiefung H10 befindet sich folgende Verbindung:



50

55

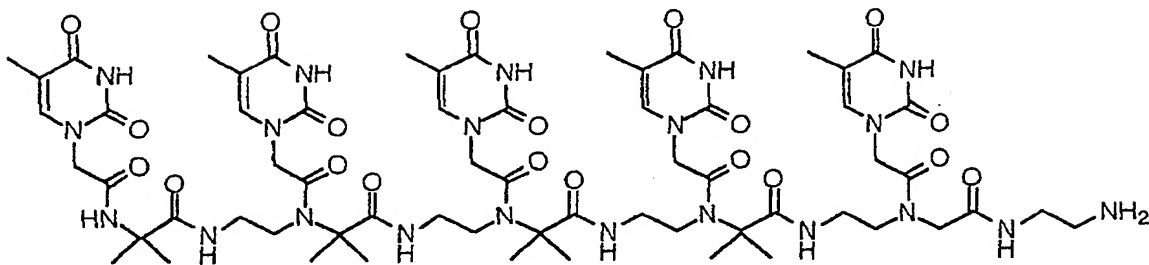
60

65



## Beispiel 6

## Herstellung eines Thyminpentamer



$C_{65}H_{93}N_{21}O_{20}$

$M_w = 1488.56$

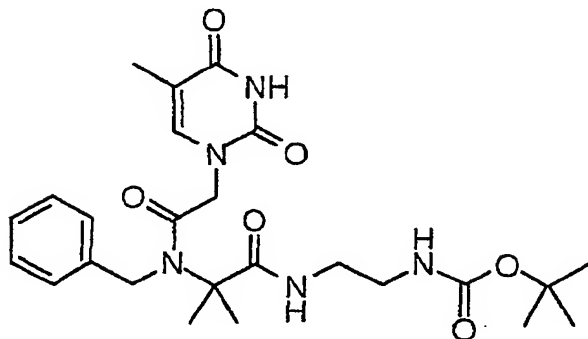
HPLC-ESI-MS: entspricht.

Zur Herstellung dieser Verbindung an Fmoc-Rinkamidharz wird nach folgendem Syntheschema verfahren:

1. Entfernen der Fmoc-Gruppe des Rinkharz mit Morpholin.
2. Schütteln des so behandelten Harzes mit Aceton, Thyminessigsäure und N-1-(4-Methoxybenzyloxycarbonyl)-2-isocyano-1-aminoethan in DMSO/DMF.
3. Cappingschritt mit Essigsäureanhydrid in DMF.
4. Entfernen der Moz-Schutzgruppe mit 5% Trifluoressigsäure, 2.5% Thioanisol, 2.5% Dimercaptoethan in  $CH_2Cl_2$ .
5. Neutralisieren mit Morpholin.
6. Schritt 2-5 4-mal wiederholen.
7. Abspaltung vom Harz mit 95% TFA.

## Beispiel 7

1 mmol Thyminessigsäure, 1 mmol Oxokomponente, 1 mmol Aminkomponente und 1 mmol Isocyanidkomponente werden in 1 ml Methanol 24 h gerührt und das ausgefallene Produkt abfiltriert. Die Ausbeuten können erhöht werden, wenn das Filtrat zur Hälfte eingeeengt wird und nochmals einer Filtration unterzogen wird.



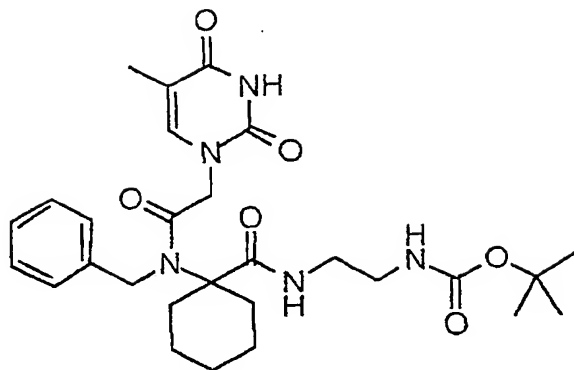
$^1H$ -NMR (250 MHz/ $d_6$ -DMSO): 1.23 (6H, s), 1.37 (9H, s), 1.75 (3H, s), 2.95-3.17 (4H, m), 4.58 (2H, s), 4.73 (2H, s), 6.70 (1H, tr), 7.29-7.50 (6H, m), 11.25 (1H, d, thymine-NH).

$^{13}C$ -NMR (62.9 MHz): 12.2, 24.4, 28.5, 43.0, 47.4, 49.7, 62.9, 78.0, 108.0, 126.9, 127.5, 128.9, 128.2, 138.8, 142.6, 151.4, 156.1, 164.8, 169.9, 174.1.

ES-MS: 502.0 (m + H)<sup>+</sup>

## Beispiel 8

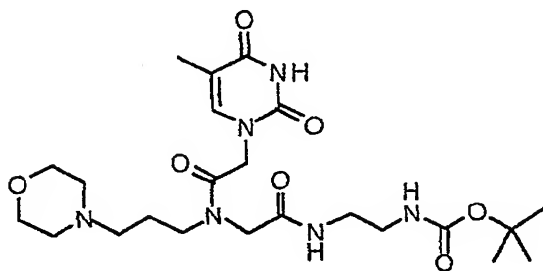
1 mmol Thyminessigsäure, 1 mmol Oxokomponente, 1 mmol Aminkomponente und 1 mmol Isocyanidkomponente werden in 1 ml Methanol 24 h gerührt und das ausgefallene Produkt abfiltriert. Die Ausbeuten können erhöht werden, wenn das Filtrat zur Hälfte eingeeengt wird und nochmals einer Filtration unterzogen wird.



<sup>1</sup>H-NMR (360 MHz/d<sub>6</sub>-DMSO): 0.83–1.54 (8H, m), 1.37 (9H, s), 1.75 (3H, s), 2.24 (2H, m), 2.95–3.17 (4H, m), 4.56 (2H, s), 4.73 (2H, s), 6.67 (1H, tr), 7.27–7.48 (6H, m), 11.28 (1H, s, thymine-NH).  
<sup>13</sup>C-NMR (62.9 MHz): 11.6, 22.0, 24.7, 28.0, 32.2, 46.6, 49.7, 65.2, 77.4, 107.8, 126.5, 126.9, 128.4, 138.1, 136.1, 142.1, 142.4, 151.0, 155.5, 157.1, 164.3, 167.7, 172.7.  
 ES-MS: 542.0 (m + H)<sup>+</sup>

## Beispiel 9

1 mmol Thyminessigsäure, 1 mmol Oxokomponente, 1 mmol Aminkomponente und 1 mmol Isocyanidkomponente werden in 1 ml Methanol 24 h gerührt und das ausgefallene Produkt abfiltriert. Die Ausbeuten können erhöht werden, wenn das Filtrat zur Hälfte eingengt wird und nochmals einer Filtration unterzogen wird.



C<sub>23</sub>H<sub>48</sub>N<sub>6</sub>O<sub>7</sub>

M<sub>w</sub>: 520.67501

<sup>1</sup>H-NMR (250 MHz/d<sub>6</sub>-DMSO):

<sup>13</sup>C-NMR (62.9 MHz): 11.8, 23.7, 24.0, 28.1, 44.9, 45.6, 47.9, 49.8, 53.0, 54.4, 55.3, 66.1, 77.6, 107.8, 142.3, 150.9, 155.5, 164.3, 166.9, 167.3, 167.9, 168.0.

ES-MS: 522 (m + H)<sup>+</sup>

## Beispiel 10

Ausführung analog den vorhergehenden Beispielen.

Isocyanidkomponente: 1-Isocyano-3-N(tert.-Butoxycarbonyl)propan  
 Oxokomponente: Paraformaldehyd

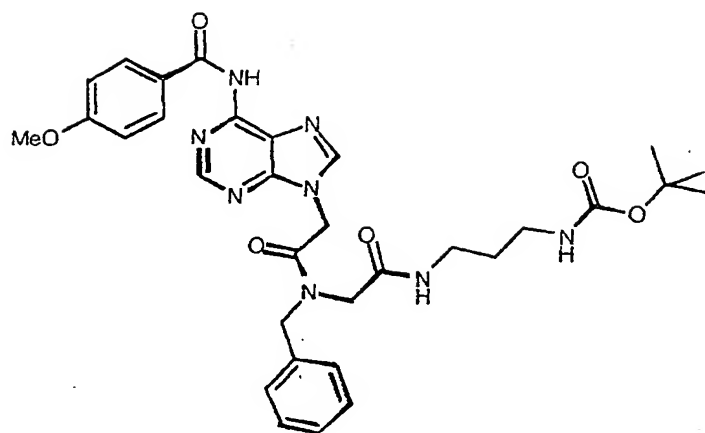
Aminkomponente: Benzylamin

Säurekomponente: N-(p-Methoxybenzoyl)-N<sub>9</sub>-adeninessigsäure

C<sub>32</sub>H<sub>38</sub>N<sub>8</sub>O<sub>6</sub>

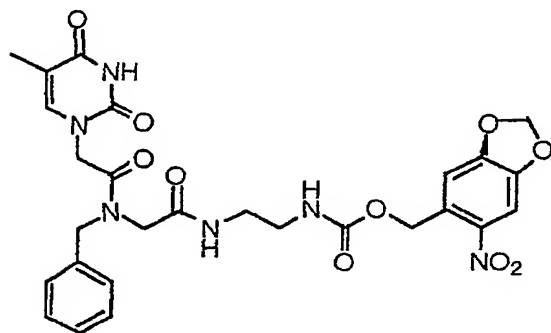
M<sub>w</sub> = 630.71

ES-MS: 632 (m + H)<sup>+</sup>



## Beispiel 11

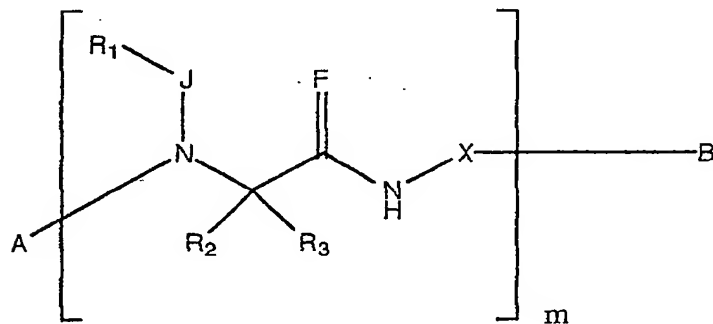
1 mmol Thyminessigsäure, 1 mmol Oxokomponente, 1 mmol Aminkomponente und 1 mmol Isocyanidkomponente werden in 1 ml Methanol 24 h gerührt und das ausgefallene Produkt abfiltriert. Die Ausbeuten können erhöht werden, wenn das Filtrat zur Hälfte eingeeengt wird und nochmals einer Filtration unterzogen wird.



$C_{27}H_{28}N_6O_{10}$   
 $M_w = 596.56$

## Patentansprüche

1. Verfahren zur Herstellung von Verbindungen der Formel (I) offenbart



## Formel I

dadurch gekennzeichnet, daß Verbindungen der Formeln

A-NH<sub>2</sub> II

R<sub>1</sub>-G III

$R_2-C(O)-R_3$  IV und

$C=N-X-NPG$  V

in einem ersten Schritt gegebenenfalls gleichzeitig miteinander umgesetzt werden, gegebenenfalls eine oder mehrere Schutzgruppen entfernt werden und die Reaktion  $n$ -mal wiederholt wird, wobei das Produkt des jeweils vorangegangenen Schrittes nach dem ersten Schritt anstelle der Verbindung mit der Formel II eingesetzt wird,

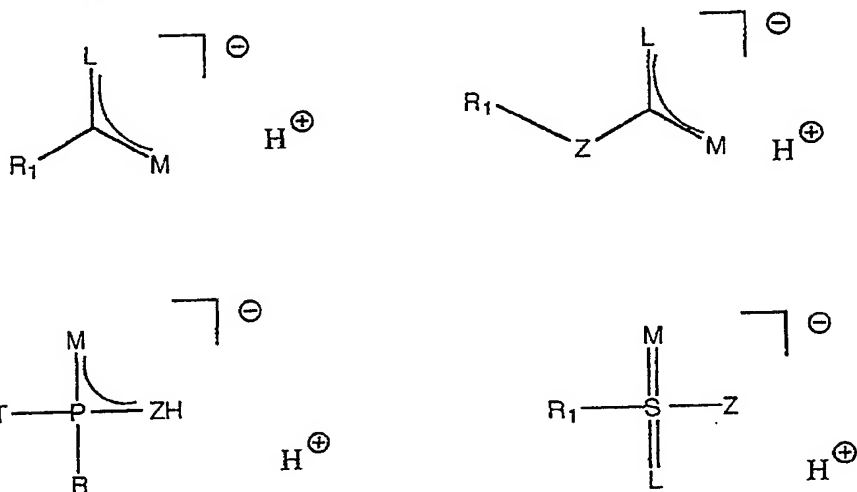
wobei

$n$  0 oder eine ganze Zahl von 1 bis 1000, vorzugsweise 1 bis 300 ist,

A ein in der Ugi Reaktion üblicher Rest der Aminkomponente wie ein Wasserstoffatom, ein Substituent, (Cyclo-)Alkyl, (Cyclo-)Alkenyl, (Cyclo-)Alkynyl, Aroyl, Heteroaroyl, ein Heterocyclus, ein Fluoreszenzmarker, ein Intercalator, ein Antibiotikum, ein Minor Groove Binder, ein Major Groove Binder, ein Biotinylrest, ein intercalierender Rest, ein alkylierender Rest, ein Steroid, ein Lipid, ein Polyamin, ein die Zellaufnahme erleichterndes Agens, ein Saccharid oder Oligosaccharid, ein Antisensepolymer, ein Peptid, ein Antikörper-Konjugat, ein synthetisches Polymer oder eine entsprechend modifizierte Oberfläche ist,

B ein Wasserstoffatom, ein Substituent, (Cyclo-)Alkyl, (Cyclo-)Alkenyl, (Cyclo-)Alkynyl, Aroyl, Heteroaroyl, ein Heterocyclus, ein Fluoreszenzmarker, ein Intercalator, ein Antibiotikum, ein Minor Groove Binder, ein Major Groove Binder, ein Biotinylrest, ein intercalierender Rest, ein alkylierender Rest, ein Steroid, ein Lipid, ein Polyamin, ein die Zellaufnahme erleichterndes Agens, ein Saccharid oder Oligosaccharid, ein Antisensepolymer, ein Peptid, ein Antikörper-Konjugat, ein synthetisches Polymer oder eine entsprechend modifizierte Oberfläche oder ein Rest X-NPG der Verbindung V ist,

R1-G aus Strukturen der folgenden Formeln ausgewählt wird:



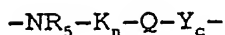
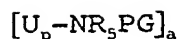
wobei die Gruppe R1-G über einen molekularen Spacer über R1 oder R oder R4 mit der Verbindung der Formel IV verknüpft sein kann;

R1 und R unabhängig voneinander ein in der Ugi Reaktion üblicher Rest der Säurekomponente wie H, ein Substituent, (Cyclo-)Alkyl, (Cyclo-)Alkenyl, (Cyclo-)Alkynyl, Aroyl, Heteroaroyl, ein Heterocyclus, ein Fluoreszenzmarker, ein Intercalator, ein Antibiotikum, ein Minor Groove Binder, ein Major Groove Binder, ein Biotinylrest, ein intercalierender Rest, ein alkylierender Rest, ein Steroid, ein Lipid, ein Polyamin, ein Saccharid oder Oligosaccharid, ein Antisensepolymer, ein Peptid, ein Antikörper-Konjugat, ein synthetisches Polymer oder eine entsprechend modifizierte Oberfläche, oder von den natürlichen Nucleobasen oder von synthetischen Nucleobasen abgeleitete Reste sind;

L, M, T und Z unabhängig voneinander O, S oder NR4 bedeuten, wobei R4 H, Fluor, (Cyclo-)Alkyl, (Cyclo-)Alkenyl, (Cyclo-)Alkynyl, Aroyl, Heteroaroyl, Heterocyclus oder -O(Cyclo-)Alkyl, -OAroyl, -S(Cyclo-)Alkyl, -SAroyl bedeuten;

R2 und R3 unabhängig voneinander ein in der Ugi Reaktion üblicher Rest der Oxokomponente wie H, ein Substituent, (Cyclo-)Alkyl, (Cyclo-)Alkenyl, (Cyclo-)Alkynyl, Aroyl, Heteroaroyl, ein Heterocyclus, ein Fluoreszenzmarker, ein Intercalator, ein Antibiotikum, ein Minor Groove Binder, ein Major Groove Binder, ein Biotinylrest, ein intercalierender Rest, ein alkylierender Rest, ein Steroid, ein Lipid, ein Polyamin, ein über einen Aminspacer verknüpftes Saccharid oder Oligosaccharid, ein Antisensemolekül, ein Peptid, ein Antikörper-Konjugat, ein synthetisches Polymer, eine modifizierte Oberfläche oder ein Verzweigungspunkt P sind, der wiederum Ausgangspunkt für einen weiteren DNA-, RNA-, PNA- oder Peptidstrang oder ein anderes Oligomer oder Polymer ist,

X die folgende Struktur aufweist:



VI



PG unabhängig voneinander gegebenenfalls orthogonale Schutzgruppen wie Aminschutzgruppen aus der Klasse der N-Acylderivate, der N-Sulfonylderivate, der N-Alkylderivate, der N-Silylderivate, der Carbamate oder der Salze darstellen;

die Reste  $R_5$  unabhängig voneinander Wasserstoffatome, unsubstituierte oder substituierte Alkyl-, Cycloalkyl-, Alkoxyalkyl- oder Arylgruppen oder Heterocyclen darstellen;

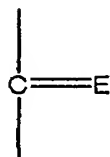
die Reste U, W, K und Y unabhängig voneinander unsubstituierte oder substituierte Alkyl-, Alkenyl-, Alkynyl-, Alkanoyl-, Alkoxyalkanoyl-, Cycloalkyl- oder Arylgruppen, unsubstituierte oder substituierte Heterocyclen oder die Gruppe  $NR_5$  darstellen, wobei  $R_5$  wie vorstehend definiert ist;

a, b, c, n, o und p unabhängig voneinander eine ganze Zahl von 0-10 vorzugsweise 0-5 sind;

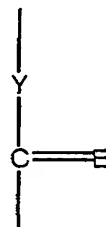
Q eine unsubstituierte oder substituierte Alkyl-, Aryl-, Alkenyl-, Alkynyl-, ein- oder mehrwertige Alkanoyl-, Cycloalkyl-, Alkoxyalkanoyl-, Cycloalkanoyl-, Aroylgruppe oder einen unsubstituierten oder substituierten Heterocyclen, oder eine der Gruppen  $NR_5$ , P, P(O), P(S), B,  $BR_5$  oder  $SO_2$  darstellt, wobei  $R_5$  wie vorstehend definiert ist und die Indices a, b, o und p jeweils entsprechende Werte aufweisen;

F eine Oxo, Thio, Seleno oder Iminogruppe darstellt, und

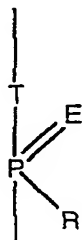
J aus den folgenden Strukturen ausgewählt wird, wobei der obere vertikale Strich die Bindung zu  $R_1$  und der untere vertikale Strich die Bindung zum Stickstoffatom der Hauptkette des Polymers in der allgemeinen Formel I darstellt:



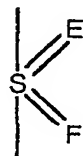
E = M oder L



E = L oder M



E = M oder Z

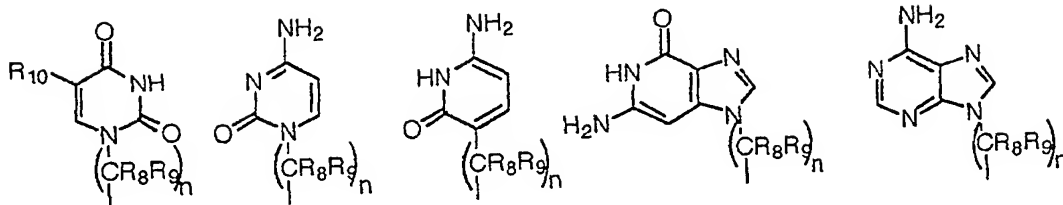
R =  $OR_6$ ,  $SR_6$ ,  $R_6$ 

E = M, L oder Z

F = M, L oder Z

wobei  $R_6$  H, einen Substituent, (Cyclo-)Alkyl, (Cyclo-)Alkenyl, (Cyclo-)Alkynyl, Aroyl, Heteroaroyl, Heterocyclen darstellt, mit der Maßgabe, daß mindestens einer der Reste R oder  $R_1$  in der Verbindung der Formel I ein von einer natürlichen oder synthetischen Nucleobase abgeleiteter Rest ist.

2. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß der Fluoreszenzmarker Fluorescein, Texas Rot, Lissamin Rhodamin, Cyanin oder Rhodamin, die Intercalatoren Psoralen, Acridin, Phenanthrolin, ein Phenanthrolin-Metall Komplex oder Ellipticin sind, die Antibiotika Endiine,  $\beta$ -Lactame, Tetracycline, Anthracycline, Polyether, Mitomycin-artige, Phosphomycin-artige, Macrolide, Bleomycin-artige oder ein Aminoglycosid sind, der Minor Groove Binder Neuropsin oder Distamycin ist, das Polyamin ein Spermidin-artiges Polyamin ist, das Antisensepolymer ein DNA- (5' oder 3' verknüpft) oder RNA Strang (5' oder 3' verknüpft) oder ein Phosphothioat ist, das Peptid N- oder C-terminal verknüpft ist, das Antikörper-Konjugat aus Antikörperkonjugaten ausgewählt wird, die zellspezifische Aufnahme gewähren, spezifische Carriersysteme ansprechen oder Endocytose bewirken, das synthetische Polymer CPG, Wang, oder Tentagel ist, die natürlichen Nucleobasen Adenin, Thymin, Guanin, Cytosin oder Uracil sind und die synthetischen Nucleobasen Pseudouracil, 5-Propinyluracil, 5-Hexenyluracil, 5-Fluorcytidin, 5-Hydroxymethyluracil, 5-Methylcytidin, 5-Bromcytidin und Verbindungen der folgenden Formel sind



wobei  $R_8$  und  $R_9$  unabhängig voneinander H, Alkyl, (Cyclo-)Alkenyl, (Cyclo-)Alkynyl, Aryl, Heteroaryl, Heterocyclus, Chlor oder Fluor sind,

$R_{10}$  = Fluor, Brom, Iod, Chlor, Alkynyl, Alkyl, Aryl, Heteroaryl oder H ist, und  $n = 1-20$ , bevorzugt  $1-10$  und besonders bevorzugt  $1-5$  ist, wobei die Seitengruppen der Basen Schutzgruppen aufweisen können.

3. Verfahren nach einem der vorstehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß  $m = 1-200$ , vorzugsweise  $1-100$  ist.

4. Verfahren nach einem der vorstehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß in jedem Reaktionsschritt zu mindestens eine der Komponenten III, IV, und/oder V variiert wird.

5. Verfahren nach einem der vorstehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß es auf einer festen Phase wie einem Chip durchgeführt wird.